

AMANDA DE PAULA TEIXEIRA

Efeitos do biocida Irgarol 1051 sobre comunidades meiofaunais costeiras

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Sistemas Costeiros e Oceânicos. Curso de Pós-Graduação em Sistemas Costeiros e Oceânicos, Centro de Estudos do Mar, Setor de Ciências da Terra, Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Dra. Fabiane Gallucci

PONTAL DO PARANÁ

2013

*“Efeitos do biocida Irgarol 1051 sobre comunidades meiofaunais
costeiras”*

POR

Amanda de Paula Teixeira

Dissertação nº 106 aprovada como requisito parcial do grau de Mestre(a)
no Curso de Pós-Graduação em Sistemas Costeiros e Oceânicos da
Universidade Federal do Paraná, pela Comissão formada pelos
professores:



Dr(a). Fabiane Gallucci - USP
Orientador(a) e Presidente(a)



Dr(a). Sergio Antonio Netto- Unisul.
Membro Examinador(a)



Dr(a). Natalia Venturini Caballero - Univ. de la República
Membro Examinador(a)

Pontal do Paraná, 22/03/2013.

CATALOGAÇÃO NA FONTE:
UFPR / SIBI - Biblioteca do Centro de Estudos do Mar

T266e Teixeira, Amanda de Paula
Efeitos do biocida Irgarol 1051 sobre comunidades meiofaunais costeiras. / Amanda de Paula Teixeira. – Pontal do Paraná, 2013.
54 f.; 29 cm.

Orientador: Dra. Fabiane Gallucci.

Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Sistemas Costeiros e Oceânicos, Centro de Estudos do Mar, Setor de Ciências da Terra, Universidade Federal do Paraná.

1. Irgarol 1051. 2. Meiofauna. 3. Nematódeos. 4. Microcosmos. 5. Biocidas. 6. Tintas anti-incrustantes I.Título. II. Fabiane Gallucci. III. Universidade Federal do Paraná.

CDD 595.182



CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SISTEMAS COSTEIROS E OCEÂNICOS

Centro de Estudos do Mar - Setor Ciências da Terra - UFPR
Avn. Beira-mar, s/nº - Pontal do Sul - Pontal do Paraná - Paraná - Brasil
Tel. (41) 3511-8644 - Fax (41) 3511-8648 - www.cem.ufpr.br - E-mail: pgsisco@ufpr.br

TERMO DE APROVAÇÃO

Amanda de Paula Teixeira

Efeitos do biocida Irgarol 1051 sobre comunidades meiofaunais costeiras

Dissertação aprovada como requisito parcial para a obtenção do grau de
Mestre(a) em Sistemas Costeiros e Oceânicos, da Universidade Federal do
Paraná, pela Comissão formada pelos professores:

Dr(a). Fabiane Gallucci - USP
Orientador(a) e Presidente(a)

Dr(a). Sergio Antonio Netto - Unisul
Membro Examinador(a)

Dr(a). Natalia Venturini Caballero - Univ. de la República
Membro Examinador(a)

Pontal do Paraná, 22/03/2013.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a minha orientadora Dra. Fabiane Gallucci pela oportunidade de trabalho e de orientação, pelo grande conhecimento e experiência com a meiofauna, pela paciência, dedicação e por toda ajuda no decorrer do trabalho.

Agradeço ao Centro de estudos do Mar- CEM, ao Programa de Pós Graduação em Sistemas Costeiros e Oceânicos- PGSISCO e ao Centro de Biologia Marinha- CEBImar, por toda a infraestrutura necessária para a realização deste trabalho, pela coordenação do curso, pelas disciplinas oferecidas, pelo carinho dos professores, técnicos, amigos e todos os funcionários.

Aos amigos da turma de mestrado de 2011 e 2012, que são muitos, por isso não vou citar um por um. Mas tenho a certeza de que eles fizeram toda a diferença nestes dois anos. São pessoas maravilhosas, bem queridas, divertidas, inteligentes, esforçadas e principalmente unidas. Juntos, estudamos, enfrentamos madrugadas em claro, cafés, energéticos, ansiedades, nos ajudamos muito! Além disso, nos divertimos muito e com certeza isso ficará para sempre em nossas memórias. O carinho e as histórias permanecerão.

Agradeço a toda minha família, pelo carinho e amor de sempre, em especial à minha mãe Marcia, a quem tanto amo e que sempre foi um exemplo de mãe responsável, esforçada, amiga e que sempre me botou pra cima e sempre confiou no meu potencial, me dando forças para continuar, me acalmando e acreditando na minha capacidade.

A todos os meus amigos da Oceanografia e da Aquicultura, da vila onde morei. Conheci pessoas maravilhosas em Pontal e em São Sebastião e sinto muito carinho por todas elas. Agradeço Pontal, por ser uma cidadezinha abençoada, pela sua simplicidade, por sua calma, silêncio, pela praia, natureza, luas e pôr-do-sol que só existem lá e a São Sebastião, por suas praias lindas e pela Mata Atlântica sensacional.

Agradeço muito ao Fernando Perina, do Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo IO-USP, que nos ajudou com a contaminação do sedimento, com a metodologia do

trabalho. Enfim, agradeço pela atenção e disponibilidade de tempo para nos ajudar numa etapa bem difícil e essencial do trabalho.

A todos do laboratório Meiofauna: Nilda, Vivi, Bilda, Carol, Dan e Gustavo por serem sempre prestativos, por me ajudarem em todas as etapas do mestrado, seja nas ideias, na preparação de lâminas, identificação de nematódeos, estatística, além da amizade sincera. Em especial agradeço à Simone, que me ajudou com a parte técnica do trabalho, na análise do microfitobentos e na identificação de nematódeos.

Agradeço já de antemão ao Ítalo Castro da Universidade Federal do Rio Grande-FURG, Departamento de Oceanografia, Laboratório de Microcontaminantes orgânicos e Ecotoxicologia Aquática, pela análise química das concentrações de Irgarol 1051 no sedimento.

E agradeço aos membros da banca de defesa do mestrado: Dr. Sergio Netto da Universidade do Sul de Santa Catarina e a Dra. Natalia Venturini da Universidad de la Republica- Uruguay pela leitura atenciosa da dissertação e pelas sugestões sobre o conteúdo da mesma.

RESUMO: Um experimento em microcosmos foi realizado para investigar os efeitos do biocida Irgarol 1051, utilizado em tintas anti-incrustantes, sobre a estrutura de comunidades meiofaunais, particularmente sobre assembleias de nematódeos. A meiofauna foi exposta a cinco tratamentos (dois controles: “controle puro” e “controle acetona”, e sedimentos contaminados com as concentrações “baixa”, “média” e “alta” de Irgarol), em diferentes tempos de exposição (5, 15 e 30 dias). As abundâncias de nematódeos e copépodos diminuíram respectivamente após 5 e 30 dias de exposição às concentrações média e alta. Além disso, houve diminuição na riqueza e diversidade de nematódeos nos tratamentos médio e alto. O Irgarol não afetou a biomassa do microfitobentos e potencial redox do sedimento, sugerindo um efeito tóxico direto na fauna. Os efeitos de curto prazo observados neste estudo parecem ser tão severos quanto àqueles reportados para o TBT.

ABSTRACT: A microcosm experiment was conducted to investigate the effects of the biocide Irgarol 1051, used in antifouling paints, on the structure of meiobenthic communities, particularly on nematode assemblages. The meiofauna was exposed to five treatments (two types of controls: "pure control" and "acetone control", and contaminated sediments with "low", "medium" and "high" concentrations of Irgarol) at different exposure times (5, 15 and 30 days). The abundance of nematodes and copepods decreased respectively after 5 and 30 days of exposure to medium and high concentrations. In addition, there was a decrease in the richness and diversity of nematodes in the medium and high treatments. Irgarol did not affect the biomass of microphytobenthos and redox potential of the sediment, suggesting a direct toxic effect on the fauna. The short-term effects observed in this study seem to be as severe as those reported for TBT.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	10
2. MATERIAIS E MÉTODOS	12
2.1. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	12
2.2. COLETA DE SEDIMENTO	14
2.3. PREPARAÇÃO DO SEDIMENTO	14
2.4. MICROCOSMOS.....	18
2.5. AMOSTRAGEM DOS MICROCOSMOS.....	18
2.6. PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS	19
2.7. ANÁLISES ESTATÍSTICAS	20
3. RESULTADOS	22
3.1. EFICIÊNCIA DOS MICROCOSMOS	22
3.2. EFEITO DO IRGAROL 1051 NA ESTRUTURA UNIVARIADA DA FAUNA	27
3.3. EFEITO DO IRGAROL 1051 NA ESTRUTURA FUNCIONAL DAS ASSEMBLEIAS DE NEMATÓDEOS.....	31
3.4. EFEITO DO IRGAROL 1051 NA ESTRUTURA MULTIVARIADA DAS ASSEMBLEIAS DE NEMATÓDEOS.....	33
3.5. EFEITO DO IRGAROL 1051 NO POTENCIAL REDOX DO SEDIMENTO E NA BIOMASSA DO MICROFITOBENTOS.....	36
3.6. RELAÇÕES ENTRE A FAUNA E FATORES AMBIENTAIS	36
4. DISCUSSÃO	38
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	43
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	43
7. APÊNDICES.....	50

Effects of the biocide Irgarol 1051 on coastal meiobenthic communities

Efeitos do biocida Irgarol 1051 sobre comunidades meiofaunais costeiras

Revista Pretendida: Marine Pollution Bulletin (*Mar Pollut Bull*), ISSN (0025-326X), Fator de Impacto (JCR, 2013) = 2.503, Qualis CAPES = Estrato A2

Amanda de Paula Teixeira^{*1,2}, Fabiane Gallucci²

¹Centro de Estudos do Mar da Universidade Federal do Paraná. Avenida Beira-mar, s/nº, balneário Pontal do Sul, CEP: 83.255-976, Caixa Postal: 50.002, Pontal do Paraná, PR, Brasil

²Centro de Biologia Marinha da Universidade de São Paulo. Rodovia Manoel Hypólito do Rego, km 131,5, CEP: 11600-000, São Sebastião, SP, Brasil

Keywords: Irgarol 1051; meiofauna; nematodes; microcosms; biocides; antifouling paints

Palavras-chave: Irgarol 1051; meiofauna; nematódeos; microcosmos; biocidas; tintas anti-incrustantes

*Email: amandadepaulateixeira@gmail.com

Telefone: +551238628448/+551238628402

1. INTRODUÇÃO

As tintas anti-incrustantes são utilizadas em revestimentos de cascos de barcos, navios e em outras estruturas submersas para prevenir a aderência e o crescimento de vários organismos invertebrados (Comber et al., 2002; Koutsaftis & Aoyama, 2007). Este procedimento pode evitar o desperdício de combustível e diminuir o tempo de serviços de manutenção das embarcações. Compostos organoestânicos, como o Tributilestanho (TBT) foram os biocidas mais utilizados em formulações de tintas, porém como consequência dos impactos ambientais em organismos não alvo, o TBT foi parcialmente proibido em pequenas embarcações (<25 m) no início dos anos 80. Atualmente o uso do TBT em tintas anti-incrustantes está completamente proibido em todo o mundo pela Organização Marítima Internacional desde Setembro de 2008 (IMO, 2001; Fent, 2006).

Com o banimento do TBT, surgiram novas alternativas no mercado, como as tintas a base de cobre contendo aditivos biocidas tais como o Irgarol 1051 (2-methylthio-4-tert-butylamino-6-cyclopropylamino-s-triazine), de modo a controlar a incrustação pelos organismos resistentes ao cobre (Yebra et al., 2004). O modo de ação bioquímico deste composto é através da inibição do transporte de elétrons nos cloroplastos durante a fotossíntese (Hall et al., 1999). Consequentemente, o Irgarol é tóxico para as espécies autotróficas aquáticas, como as algas cianofíceas, macrófitas e dinoflagelados simbióticos em corais (Hall et al., 1999; Owen et al., 2002; Zhang et al., 2008). No entanto, o impacto de novos anti-incrustantes como o Irgarol 1051 sobre os invertebrados marinhos ainda é pouco conhecido. Alguns estudos com larvas de ouriço-do-mar (Manzo et al., 2006; Perina et al., 2011), gastrópodos (Finnegan et al., 2009) e bivalves (Mai et al., 2012) têm demonstrado efeitos negativos do Irgarol no desenvolvimento e metabolismo destes organismos.

O Irgarol possui fortes características de adsorção (Lambropoulou et al., 2004) e tende a acumular nos sedimentos marinhos. A adsorção desses biocidas às partículas de sedimento aumenta a sua persistência, potencialmente causando danos ecológicos no ambiente aquático (Evans et al.,

2000). Embora seu uso tenha sido proibido em pequenas embarcações (<25 m de comprimento) no Reino Unido e na Dinamarca (Readman et al., 2002), o Irgarol ainda é largamente utilizado em outras partes do mundo, e elevadas concentrações no sedimento têm sido frequentemente detectadas em ambientes aquáticos, especialmente em marinas e portos (Konstantinou & Albanis, 2004; Lam et al., 2006). Dessa maneira, os organismos bênticos são um dos principais alvos da contaminação marinha.

Dentre a fauna bêntica, a meiofauna representa o grupo de metazoários mais numerosos em habitats sedimentares com densidades na ordem de um milhão por metro quadrado de sedimento (Heip et al., 1985). Representam também um dos grupos mais diversos no ambiente marinho (Platt & Warwick, 1980), sendo o filo Nematoda o mais abundante. Diferentemente de outros grupos bênticos, os organismos meiofaunais apresentam em sua maioria desenvolvimento direto, ou seja, sem estágio larval planctônico de modo que todos os seus estágios de vida estão intimamente associados aos sedimentos superficiais (Giere, 2009). Assim, alterações na composição de suas assembleias são bons indicadores de que mudanças estão ocorrendo no ambiente, sejam mudanças naturais (Guo et al., 2001; Nozais et al., 2005) ou resultados de atividades antrópicas (Bongers & Ferris, 1999; Kennedy & Jacoby, 1999). Além da ausência de estágio larval, seu pequeno tamanho, alta densidade populacional e reprodução contínua com tempo de geração relativamente curto (Suderman & Thistle, 2003), permitem a manipulação e manutenção de assembleias naturais em microcosmos de laboratório de forma relativamente simples, abrindo a possibilidade de investigação dos efeitos isolados de poluentes em comunidades inteiras sob condições controladas e replicáveis (Schratzberger et al., 2002; Millward et al., 2004; Gyedu-Abadio & Baird, 2006).

Os efeitos da exposição a contaminantes como o Irgarol podem potencialmente ser diretos, através da ingestão do composto com o alimento ou pela cutícula (Power & Chapman, 1992), ou indireto, através, por exemplo, de uma alteração em algum recurso alimentar como o microfitobentos, na disponibilidade de oxigênio no sedimento, como consequência da degradação do Irgarol e/ou ainda da matéria orgânica no sedimento.

A avaliação dos riscos introduzidos por compostos como o Irgarol 1051 em comunidades meiofaunais, especialmente na grande diversidade de espécies de nematódeos, é de grande relevância vista a elevada afinidade de contaminantes com os sedimentos aquáticos e a representatividade da meiofauna em termos de abundância e riqueza de espécies em sedimentos marinhos. Assim, os objetivos deste estudo são (i) investigar através de experimentos controlados em laboratório, os efeitos do composto Irgarol 1051 em diferentes níveis de concentração e em diferentes tempos de exposição sobre a estrutura de comunidades meiofaunais, particularmente sobre as assembleias de nematódeos; (ii) Investigar possíveis efeitos indiretos de diferentes concentrações de Irgarol sobre as comunidades meiofaunais e assembleias de nematódeos através de uma possível redução de um item alimentar (microfitobentos) e/ou de uma alteração do oxigênio no sedimento.

Este estudo irá testar a hipótese geral de que a contaminação do sedimento por Irgarol 1051 altera a abundância, diversidade, composição e estrutura das comunidades meiofaunais e assembleias de nematódeos e esta alteração depende das concentrações e do tempo de exposição ao contaminante. Espera-se que a abundância, riqueza e diversidade de nematódeos diminuam com o aumento das concentrações e com o tempo de exposição ao Irgarol. Paralelamente, espera-se que os nematódeos comedores de epístrato, que se alimentam do microfitobentos, sejam diferencialmente afetados, assim como o potencial redox do sedimento, ou seja, espera-se que ocorra uma alteração no funcionamento das assembleias de nematódeos e na disponibilidade de oxigênio conforme o aumento das concentrações de Irgarol.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O experimento em microcosmos foi realizado para avaliar os efeitos do contaminante Irgarol 1051 sobre comunidades meiofaunais. O experimento testou 2 fatores: “Tratamento” (dois tipos de

controle: um “controle puro” e um “controle com acetona”) e três níveis de concentração de Irgarol: “baixa” (30 µg/Kg), “média” (300 µg/Kg) e “alta” (3000 µg/Kg) e “Tempo” (5, 15 e 30 dias). Foram amostrados 4 microcosmos para cada tratamento em cada intervalo de tempo, totalizando 60 microcosmos (Fig. 1).

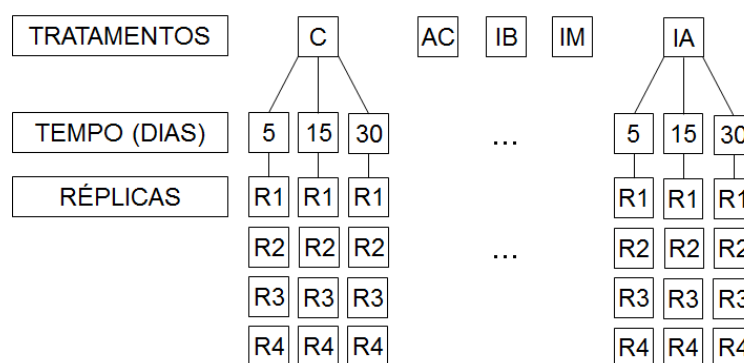


Fig.1. Delineamento amostral do experimento. Cada um dos cinco tratamentos foi amostrado em três tempos (5, 15 e 30 dias), com quatro réplicas sendo tomadas de cada tratamento. C: controle puro, AC: controle acetona, IB: Irgarol baixo, IM: Irgarol médio e IA: Irgarol alto.

As concentrações baixa, média e alta de Irgarol escolhidas representam concentrações encontradas em sedimentos naturais no campo. A concentração alta compara-se a concentrações encontradas em marinas e portos, muitas vezes próximas a rampas onde é feita a pintura e a raspagem de cascos de embarcações (Boxall et al., 2000; Comber et al., 2002). Já a concentração média e baixa refletem concentrações comumente encontradas em marinas com alta densidade de barcos e baixa taxa de renovação de água, não necessariamente próximo a estaleiros (Biselli et al., 2000; Lamoree et al., 2002).

O “controle acetona” foi feito, pois a acetona foi utilizada como solvente do Irgarol na contaminação do sedimento, o que poderia eventualmente confundir a análise dos efeitos do contaminante. Dessa maneira, ao comparar o “controle acetona” com o “controle puro”, foi possível investigar se este solvente poderia exercer algum efeito sobre a fauna.

Os três tempos amostrais (5, 15 e 30 dias) foram escolhidos por representarem um “curto”, “médio” e “longo” prazo hipotético de resposta da fauna em relação à exposição ao contaminante Irgarol e também com base na vida útil dos microcosmos, verificada através de um estudo piloto.

2.2. COLETA DE SEDIMENTO

O sedimento com a meiofauna foi coletado em uma área superficial no sublitoral raso (aproximadamente 1 m de profundidade) na Praia do Cabelo Gordo, Canal de São Sebastião (norte do estado de São Paulo, 23º 49, 58' S - 45º 25, 31' W). Este local é caracterizado por um substrato de areia fina (71,7-90,4% de areia, 4,3-19,4% de silte e 5,3-8,9% de argila) (Santos & Castro, 2003) e é considerado “moderadamente bem classificado” (Turra et al., 2007). Sedimento superficial (5 cm de profundidade) foi coletado com o auxílio de um amostrador de 5 cm de altura e 10 cm de diâmetro e levado em baldes para o laboratório. A coleta de sedimento foi realizada em duas datas distintas. No dia 13 de janeiro de 2012, foram coletados sedimentos para serem defaunados e contaminados nas diferentes concentrações de Irgarol; e sedimentos para serem defaunados e usados na preparação dos controles.

Após a preparação destes sedimentos, uma segunda coleta foi realizada no dia 3 de fevereiro de 2012 para a obtenção do sedimento contendo a meiofauna. Esses sedimentos (defaunado contaminado ou não contaminado e o sedimento contendo a meiofauna) foram posteriormente misturados nos microcosmos.

2.3. PREPARAÇÃO DO SEDIMENTO

DEFAUNAÇÃO E CONTAMINAÇÃO DO SEDIMENTO

O sedimento foi primeiramente misturado manualmente de modo a se obter um produto homogêneo e consistente para a posterior fortificação (contaminação) denominada “*Spiking*” na língua inglesa (Northcott & Jones, 2000). Em seguida, este sedimento foi congelado por 12 h e descongelado por 48 h, por três vezes, até completa defaunação (Schratzberger et al., 2002),

verificada através do auxílio de microscópio estereoscópico. Uma vez feito este procedimento, o sedimento foi congelado novamente e mantido durante uma semana até o dia em que foi utilizado na preparação dos tratamentos. Antes da contaminação, determinou-se o teor de umidade do sedimento para que fossem calculadas as concentrações das soluções de Irgarol, com base no peso seco.

As soluções-estoque com as diferentes concentrações de Irgarol foram preparadas através da dissolução do Irgarol em acetona. Este procedimento foi adotado em virtude da baixa solubilidade do Irgarol em água. A acetona foi escolhida como solvente por ser completamente miscível em água e por apresentar alta volatilidade (Budavari et al., 1996; WHO, 1998), facilitando a homogeneização e remoção do sedimento. Outros trabalhos também já utilizaram a acetona como solvente (Inglesfield, 1984; Larsen et al., 1992; Austen & McEvoy, 1997; Chung & Alexander, 1998; Perina et al., 2011). O seu volume deve ser o mínimo possível, pois pode causar efeitos diretos ou indiretos à biota, por exemplo, através da modificação nas características químicas do sedimento (Nkedi-Kizza et al., 1985).

Primeiramente, os padrões de Irgarol (Sigma - Aldrich) foram pesados e dissolvidos em 25 ml de acetona. Depois, as soluções-estoque com as diferentes concentrações de Irgarol foram diluídas em 75 ml de água do mar filtrada (filtro de 1 μ m) e bem homogeneizadas. Em seguida, essas soluções foram colocadas em cubetas contendo o sedimento defaunado (Fig. 2). Em uma primeira cubeta foram adicionados “6000” μ g de Irgarol em 1 kg de sedimento seco, em uma segunda, “600” μ g e em uma terceira “60” μ g. Esses sedimentos foram preparados com o dobro da concentração final desejada de Irgarol (3000, 300 e 30 μ g/Kg), pois se considerou sua posterior diluição com o sedimento não contaminado contendo a meiofauna.

Para o controle acetona, 25 ml de acetona foram diluídas em 75 ml de água do mar e, em seguida colocadas na cubeta com 1 Kg de sedimento defaunado. Para o controle puro, foi adicionada somente 100 ml de água do mar em 1 Kg de sedimento seco defaunado (Fig. 2).

Os sedimentos das cinco cubetas foram então homogeneizados por cinco minutos duas vezes ao dia, durante uma semana, para que o contaminante entrasse em equilíbrio entre a água intersticial e o sedimento e para facilitar a volatilização da acetona. Durante este período as cubetas foram mantidas em temperatura constante (20°C) e cobertas com filme plástico preto para evitar a fotodegradação do Irgarol. O tempo de repouso de uma semana foi definido de acordo com o coeficiente de partição octanol - água do Irgarol ($\log K_{ow}$: 3,95) (Hall et al., 1999) que representa a razão entre a solubilidade de um composto em octanol, um solvente não-polar e sua solubilidade em água, um solvente polar. Após esse procedimento, os sedimentos foram distribuídos em seus devidos microcosmos.

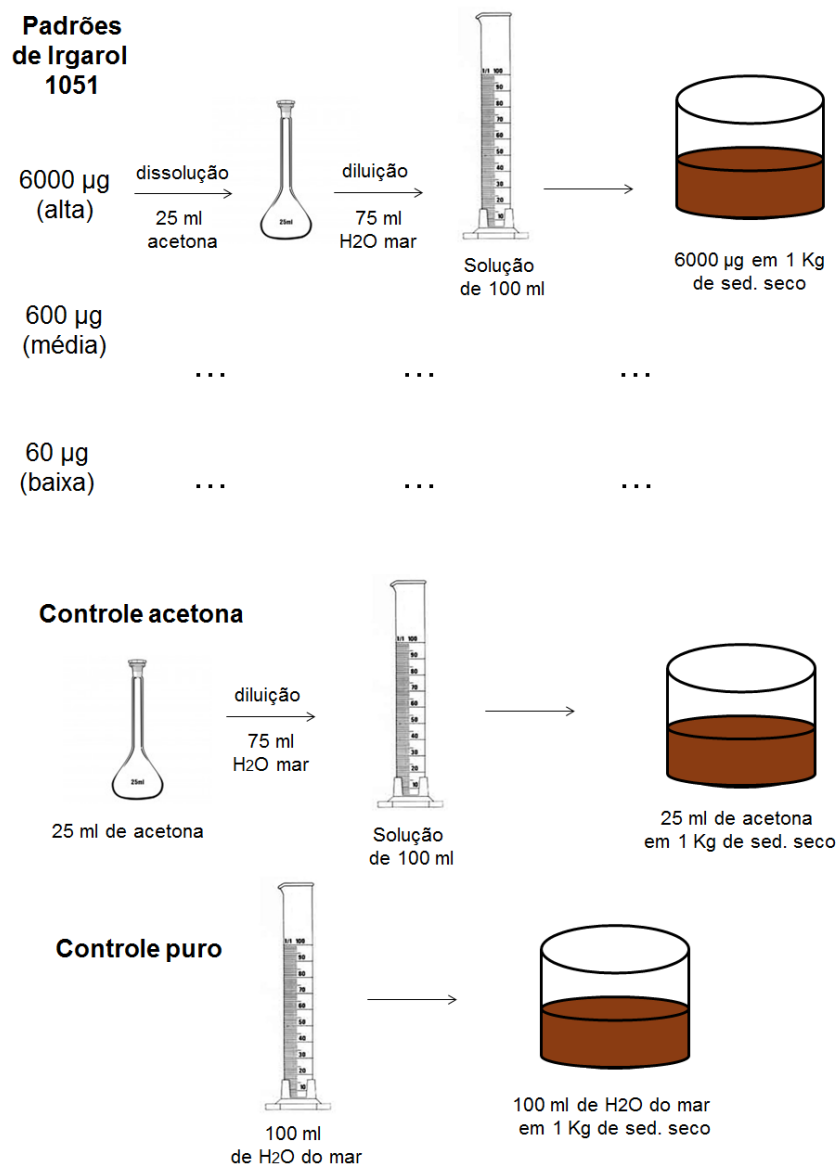


Fig.2. Esquema da preparação das soluções com as diferentes concentrações de Irgarol 1051, contaminação do sedimento e preparação dos controles.

SEDIMENTO CONTENDO A MEIOFAUNA

O sedimento da segunda coleta, ou seja, os primeiros 5 cm de sedimento contendo a meiofauna, foi transferido para caixas e cuidadosamente homogeneizado manualmente para assegurar uma distribuição equitativa da meiofauna entre os microcosmos. Deste sedimento foram retiradas quatro amostras de 92 g cada (equivalente à quantia a ser colocada em cada microcosmo) e conservadas em potes de vidro com formol 4% para posterior análise da estrutura da comunidade

meiofaunal no início do experimento (tempo zero). O restante do sedimento foi distribuído entre os microcosmos.

2.4. MICROCOSMOS

Os microcosmos consistiram de béquers de vidro de 500 ml, com altura de 14 cm e diâmetro interno de 8 cm. Cada béquer foi preenchido com 80 g de sedimento defaunado (contaminado ou não) e 92 g de sedimento contendo meiofauna, formando uma camada de sedimento de 4 cm de altura. Esta proporção foi escolhida a fim de se obter as concentrações finais desejadas de Irgarol, levando-se em conta o teor de umidade dos sedimentos defaunado e não-defaunado. Esses sedimentos foram misturados suavemente com um bastão de vidro e em seguida os béquers foram preenchidos cuidadosamente com água do mar filtrada, através de uma pisseta para evitar a ressuspensão do sedimento. Os béquers foram então fechados com parafilme para evitar a evaporação da água do mar e um consequente aumento da salinidade.

A aeração constante foi realizada individualmente por bomba de aquário externa, através de mangueiras de plástico flexível com pedras porosas, introduzidas e fixadas no parafilme. Cada microcosmo foi considerado uma unidade experimental independente e sua posição na bancada foi atribuída aleatoriamente. O experimento teve duração de um mês e foi conduzido em temperatura constante de 20°C e no escuro, para evitar o crescimento excessivo de microalgas (Schratzberger et al., 2002) e a fotodegradação do Irgarol 1051.

2.5. AMOSTRAGEM DOS MICROCOSMOS

Em cada tempo amostral (5, 15 e 30 dias), foram amostradas aleatoriamente quatro réplicas de cada tratamento. Primeiramente, a água sobrenadante de cada béquer foi sifonada através de uma mangueira e passada em uma peneira de malha de 45 µm para reter qualquer organismo em suspensão. Em seguida, mediu-se o potencial redox dos primeiros centímetros do sedimento (mV) através de sensor portátil. Depois, 3 cm³ do sedimento foi amostrado através de uma seringa de 1

cm de diâmetro e 3 cm de altura e transferido para potes para a análise do microfitobentos (clorofila-*a* e feopigmentos) e o restante do sedimento foi transferido para potes de vidro e fixado com formol 4 % para a análise da meiofauna (grupos meiofaunais e morfoespécies de nematódeos). Também foi amostrada uma réplica de cada tratamento contaminado nos três tempos (5, 15 e 30 dias) para a futura análise química da concentração de Irgarol 1051 no sedimento, que será realizada pelo Laboratório de Microcontaminantes orgânicos e Ecotoxicologia Aquática da Universidade Federal do Rio Grande- FURG, totalizando ao final do experimento 69 microcosmos amostrados, sendo 9 para a análise química.

Porém, devido à quebra de algumas amostras, o desenho experimental sofreu alterações no seu número de réplicas por tratamento, para balanceá-lo. Assim, o desenho contemplou 3 réplicas por tratamento ao invés de 4, totalizando 54 amostras. A retirada de réplicas deu-se ao final do experimento por dois meios, após terem sido realizadas as contagens da meiofauna. Primeiramente foram retiradas réplicas que representassem *outliers* em relação à variável abundância total da meiofauna. Para tal, utilizou-se o gráfico quantil-quantil normal dos resíduos para a análise do modelo, a fim de observar o comportamento das variáveis, e o gráfico de dispersão do resíduo padronizado versus *leverage* (medida de influência), com a distância de Cook, para a retirada dos *outliers*. Em seguida, tratamentos que não apresentaram *outliers* tiveram uma réplica retirada por sorteio.

2.6. PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS

As amostras de meiofauna foram lavadas em peneira de malha de 45 µm e a meiofauna foi extraída através do método de flotação com solução de sílica coloidal (Ludox TM⁵⁰) com gravidade específica de 1,18. O processo foi repetido três vezes (Austen & Warwick, 1989). O material retido foi armazenado em formol 4% e corado com Rosa de Bengala. A meiofauna foi contada e identificada com o auxílio de microscópio estereoscópico. 10% do total de nematódeos por microcosmo (mínimo de 120 e máximo de 270 nematódeos) foram pegos aleatoriamente com o uso

de agulha e transferidos para glicerol. Os nematódeos foram montados em uma gota de glicerina em lâminas permanentes, identificados até gêneros e separados em morfoespécies sob microscópio óptico. As amostras de microfitobentos foram imediatamente congeladas e os pigmentos fotossintéticos extraídos com 10 ml de acetona 90% por 24 hs a uma temperatura de 4°C. As absorvâncias nos comprimentos de onda 665 nm e 750 nm foram analisadas antes e após acidificação com HCL por espectrofotômetro digital (Parsons et al., 1984) e as concentrações dos pigmentos foram estimadas através das equações de Lorenzen (1967).

2.7. ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Para cada amostra foram considerados os índices univariados: abundância da meiofauna, abundância de nematódeos, abundância de copépodos, número de grupos meiofaunais, número de gêneros e espécies de nematódeos, e diversidade de nematódeos- Shannon-Wiener (H').

A fim de verificar se houve algum grupo alimentar específico de nematódeos afetado pela contaminação com Irgarol, a percentagem de cada grupo alimentar segundo Wieser (1953): detritívoros seletivos (1A), detritívoros não seletivos (1B), comedores de epistrato (2A) e predadores (2B) também foi calculada para cada amostra.

O índice de maturidade (IM) foi calculado de acordo com a média ponderada dos valores de cada gênero individual de nematódeos, segundo a fórmula: $IM = \sum v(i) f(i)$, onde v é o valor de c-p (colonizadores-persistentes) do gênero i e $f(i)$ é a frequência de cada gênero. Este índice representa uma medida ecológica dos distúrbios ambientais baseado na composição das espécies de nematódeos e suas estratégias de vida K-estrategistas e R-estrategistas (Bongers et al., 1991).

Como medida indireta da biomassa do microfitobentos, também foram calculadas para cada amostra as concentrações de clorofila-*a* e feopigmentos, e sua razão Chl-*a*/Feo como medida da degradação de clorofila. O potencial redox do sedimento de cada amostra foi obtido como uma medida indireta da disponibilidade de oxigênio no sedimento.

Com o objetivo de avaliar a eficiência dos microcosmos, uma ANOVA de um fator, com o fator “tempo” fixo e com quatro níveis (0, 5, 15 e 30 dias) foi realizada para verificar diferenças na estrutura univariada da fauna entre os controles puros nesses tempos. Diferenças nas concentrações dos pigmentos fotossintéticos e potencial redox foram analisadas entre os controles somente nos tempos 5, 15 e 30 dias, devido a problemas de amostragem no tempo 0.

Uma ANOVA bifatorial foi realizada para analisar diferenças entre os fatores: “tratamento” (fator fixo, cinco níveis: controle puro, controle acetona, Irgarol baixo, médio e alto), “tempo” (fator fixo, três níveis: 5, 15 e 30 dias) e sua interação, com nível de significância $p = 0,05$. Quando os resultados foram significativos ($p < 0,05$), o teste de comparações múltiplas Student - Newman Keuls (SNK) foi utilizado em comparações pareadas. Os pressupostos de homocedasticidade da ANOVA foram verificados através do Teste de homogeneidade de variâncias de Cochran C. Quando heteroscedásticos, os dados foram transformados por $\log(x+1)$. No entanto, as análises de variância foram conduzidas mesmo quando os pressupostos não foram atendidos, uma vez que a validade do teste e as probabilidades associadas com a distribuição da *razão F* não são afetadas quando os dados estão balanceados, ou seja, quando as amostras são do mesmo tamanho. Não há um aumento da probabilidade de diferenças ocorrerem entre amostras simplesmente por uma amostra apresentar uma variância maior que outra, como sugerido por Underwood (1997).

O coeficiente de correlação de *Spearman* foi calculado entre os dados univariados da meiofauna e as concentrações de clorofila-*a* e feopigmentos, razão Chl-*a*/Feo e o potencial redox, para analisar o grau de correlação entre estas variáveis.

Com o objetivo de avaliar diferenças na estrutura multivariada da fauna o mesmo desenho amostral da ANOVA foi utilizado na análise de variância multivariada permutacional (PERMANOVA; Anderson, 2001). As análises foram feitas a partir de matrizes de similaridade construídas utilizando-se o índice de Bray-Curtis. Quando os resultados foram significativos ($p < 0,05$), o teste de comparações múltiplas Monte Carlo foi utilizado em comparações pareadas, devido ao pequeno número de possíveis permutações (Anderson, 2001). Para visualizar a estrutura multivariada da

fauna foi realizada a ordenação de escala multidimensional não-métrica (nMDS; Clarke & Ainsworth, 1993) dos dados com base na mesma matriz de similaridade utilizada na PERMANOVA. A análise de porcentagem de similaridade SIMPER foi utilizada para determinar a contribuição relativa de cada morfoespécie de nematódeo para a dissimilaridade entre os “tempos” (dos controles puros) e entre os “tratamentos” e “tempos”.

Foi realizada a análise BioEnv (Clarke & Ainsworth, 1993) entre os dados do sedimento (clorofila-*a*, feopigmentos, razão Chl-*a*/Feo e potencial redox) e a estrutura multivariada da fauna para verificar se alguma destas variáveis ambientais ou um grupo delas explicou a estrutura da fauna e assim investigar possíveis efeitos indiretos da contaminação por Irgarol 1051 sobre a fauna.

3. RESULTADOS

No presente estudo, foram encontrados 9 taxa superiores da meiofauna com abundâncias entre 298 e 4358 indivíduos por microcosmo (Apêndice 1). O grupo mais abundante foi Nematoda, contribuindo entre 77 e 100 % do total da meiofauna por microcosmo. O segundo grupo mais abundante foi Copepoda, representando de 0,1 a 14 (0,1 a 22 % com náuplios) da fauna. Os demais grupos representaram cada menos de 3 % do total da fauna. Um total de 68 morfoespécies de nematódeos pertencentes a 52 gêneros foi registrado durante todo o estudo. As abundâncias variaram entre 292 e 4248 indivíduos por microcosmo (Apêndice 2).

3.1. EFICIÊNCIA DOS MICROCOSMOS

Com o objetivo de avaliar a qualidade e a eficiência dos microcosmos experimentais, a comunidade de meiofauna e assembleias de nematódeos do tempo 0 foram comparadas com àquelas mantidas nos microcosmos controle nos diferentes tempos. O número de grupos meiofaunais, a abundância de copépodos, o número de gêneros, de espécies e a diversidade de nematódeos, o índice de maturidade e a abundância relativa dos grupos alimentares de nematódeos

não diferiram significativamente entre a fauna do tempo 0 e a fauna dos controles experimentais. Já as abundâncias da meiofauna e de nematódeos foram significativamente menores nos controles puros dos tempos 5, 15 e 30 dias, quando comparadas ao tempo 0, mostrando um efeito do microcosmos na comunidade (Tabelas 1 e 2, Fig. 3). No entanto, após cinco dias de experimento os valores de abundância estabilizaram, isto é, não houve diferenças significativas na abundância da comunidade entre os controles experimentais.

Assim como a meiofauna, a biomassa do microfitobentos não foi alterada nos controles experimentais, ou seja, as concentrações de clorofila-*a*, feopigmentos e sua razão não diferiram entre os tempos 5, 15 e 30 dias (Tabela 3). Houve diferenças significativas apenas no potencial redox do sedimento entre os controles do tempo 5 e 15 dias, sendo os valores maiores neste último (Tabela 3, Fig. 3).

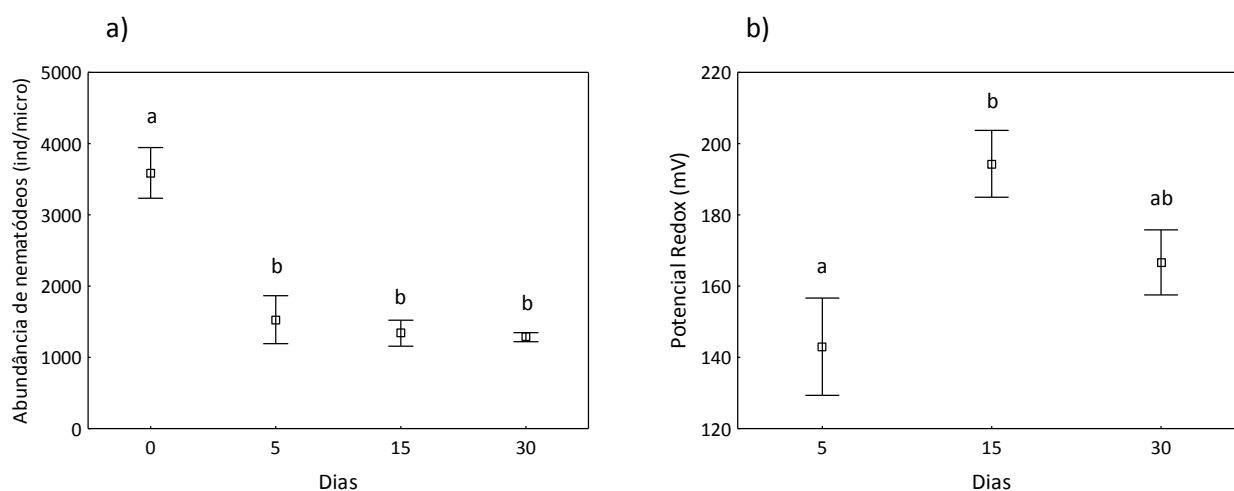


Fig. 3. Média e erro padrão para o índice abundância de nematódeos (a) e para o potencial redox do sedimento entre os controles nos diferentes tempos (b). Diferentes letras representam diferenças significativas encontradas no teste de pós-hoc (SNK).

Tabela 1. Resultados da ANOVA unifatorial dos índices univariados da fauna dos controles. Os valores em negrito indicam $p < 0,05$.

Efeito do microcosmo	df	SS	MS	F	p-value
<i>Abundância da meiofauna</i>					
Tempo	3	10928370	3642790	17,18	0,001
Resíduo	8	1696051	212006		
<i>Abundância de nematódeos</i>					
Tempo	3	11040233	3680078	17,70	0,001
Resíduo	8	1663474	207934		
<i>Abundância de copépodos</i>					
Tempo	3	0,67	0,22	3,08	0,090
Resíduo	8	0,58	0,07		
<i>Nº grupos meiofaunais</i>					
Tempo	3	2,00	0,67	1,14	0,389
Resíduo	8	4,67	0,58		
<i>N gêneros nematódeos</i>					
Tempo	3	3,67	1,22	0,35	0,791
Resíduo	8	28,00	3,50		
<i>Nº espécies nematódeos</i>					
Tempo	3	18,92	6,31	1,02	0,432
Resíduo	8	49,33	6,17		
<i>Diversidade nematódeos (H')</i>					
Tempo	3	0,10	0,03	2,93	0,100
Resíduo	8	0,09	0,01		

Tabela 2. Resultados da ANOVA unifatorial da abundância relativa dos grupos alimentares de nematódeos e índice de maturidade (IM) dos controles. Os valores em negrito indicam $p < 0,05$.

Efeito do microcosmo	df	SS	MS	F	p-value
<i>Detritívoros seletivos-1A</i>					
Tempo	3	0,00	0,00	2,79	0,109
Resíduo	8	0,00	0,00		
<i>Detritívoros não seletivos-1B</i>					
Tempo	3	0,01	0,00	0,74	0,556
Resíduo	8	0,02	0,00		
<i>Comedores de epistrato-2A</i>					
Tempo	3	0,01	0,00	2,91	0,101
Resíduo	8	0,01	0,00		
<i>Predadores-2B</i>					
Tempo	3	0,01	0,00	1,74	0,236
Resíduo	8	0,01	0,00		
<i>IM</i>					
Tempo	3	0,01	0,00	1,42	0,305
Resíduo	8	0,02	0,00		

Tabela 3. Resultados da ANOVA unifatorial para os fatores ambientais dos controles. Os valores em negrito indicam $p < 0,05$.

Efeito do microcosmo	df	SS	MS	F	p-value
<i>Potencial Redox</i>					
Tempo	2	3960,7	1980,3	5,53	0,043
Resíduo	6	2147,3	357,9		
<i>Clorofila-a</i>					
Tempo	2	0,12	0,06	0,37	0,699
Resíduo	6	1,00	0,16		
<i>Feopigmentos</i>					
Tempo	2	0,27	0,13	0,17	0,841
Resíduo	6	4,60	0,76		
<i>Chl-a/Feo</i>					
Tempo	2	0,01	0,00	0,20	0,821
Resíduo	6	0,26	0,04		

O nMDS dos dados de abundância das espécies de nematódeos mostrou dois agrupamentos entre os controles: um agrupamento entre as amostras do tempo 0 e outro agrupamento entre as amostras dos controles experimentais nos tempos 5, 15 e 30 dias (Fig. 4). Os resultados da PERMANOVA mostraram diferenças significativas na estrutura multivariada da fauna entre o controle do tempo 0 e os controles do tempo 15 e 30 dias (Tabela 4). A estrutura das assembleias de nematódeos diferiu apenas marginalmente entre os tempos 0 e 5 dias e não diferiu entre os tempos 5, 15 e 30 dias. De acordo com a análise SIMPER, estas diferenças foram relacionadas principalmente a diminuição na abundância das espécies dominantes, como *Pseudosteineria* sp.1, *Odontophora* sp.1, *Sabatieria* sp.1, *Oncholaimellus* sp.1, *Paracanthochus* sp.1 e *Bolbolaimus* sp.1 nos controles experimentais.

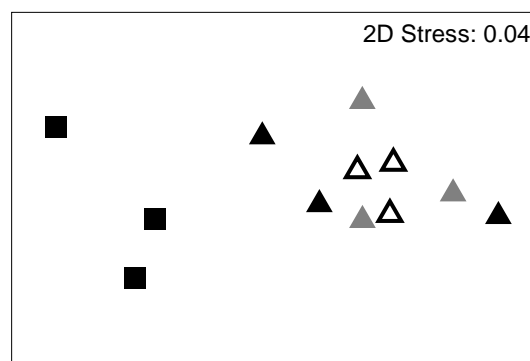


Fig. 4. Ordenação nMDS dos dados de abundância de espécies de nematódeos dos controles. Quadrados representam as amostras do tempo 0, triângulos pretos, cinzas e brancos representam respectivamente as amostras dos tempos 5, 15 e 30 dias.

Tabela 4. Resultados da PERMANOVA e do post-hoc Monte Carlo para a estrutura multivariada das assembleias de nematódeos dos controles. C0, C5, C15 e C30: controle nos tempos 0, 5, 15 e 30 dias. Os valores em negrito indicam $p < 0,05$.

Fonte de variação	df	MS	Pseudo-F	P (perm)
Tempo	3	1527,6	3,09	0,024
Resíduo	8	494,34		
	t	P (MC)		
C0 x C5	1,93	0,051		
C0 x C15	2,55	0,011		
C0 x C30	2,86	0,009		
C5 x C15	0,61	0,814		
C5 x C30	0,62	0,782		
C15 x C30	0,63	0,776		

3.2. EFEITO DO IRGAROL 1051 NA ESTRUTURA UNIVARIADA DA FAUNA

Os resultados da ANOVA bifatorial mostraram diferenças significativas na abundância da meiofauna e na abundância, número de gêneros, número de espécies e diversidade de nematódeos entre os tratamentos, independente do tempo de exposição ao Irgarol (Tabela 5). O teste a posteriori SNK detectou uma menor abundância da meiofauna e de nematódeos no controle acetona em comparação ao controle puro, evidenciando um efeito da acetona na fauna (Fig. 5). A abundância da fauna e o número de espécies de nematódeos também foram significativamente menores no controle acetona quando comparados ao tratamento Irgarol baixo (Fig. 5). O número de espécies de nematódeos foi significativamente menor no tratamento alto de Irgarol em relação ao controle puro, mas não diferiu do controle acetona (Fig. 5). A abundância da meiofauna assim como a abundância e diversidade de nematódeos foram significativamente menores nos tratamentos Irgarol médio e Irgarol alto quando comparadas ao controle acetona (Fig. 5). O número de gêneros e a diversidade de nematódeos também foram menores nos tratamentos médio e alto de Irgarol em relação ao controle puro (Fig. 5). No entanto, o número de grupos meiofaunais não diferiu entre os tratamentos (Tabela 5).

Diferentemente dos nematódeos, diferenças na abundância de copépodos entre os tratamentos dependeram do tempo de exposição ao contaminante, como mostra a interação significativa entre os fatores “tratamento” e “tempo” (Tabela 5). Estas diferenças foram detectadas apenas após 30 dias de experimento, quando a abundância de copépodos nos tratamentos contaminados com as concentrações média e alta foi significativamente menor quando comparada ao controle puro (Fig. 5). Não foi detectado efeito da acetona sobre a abundância de copépodos (Fig. 5).

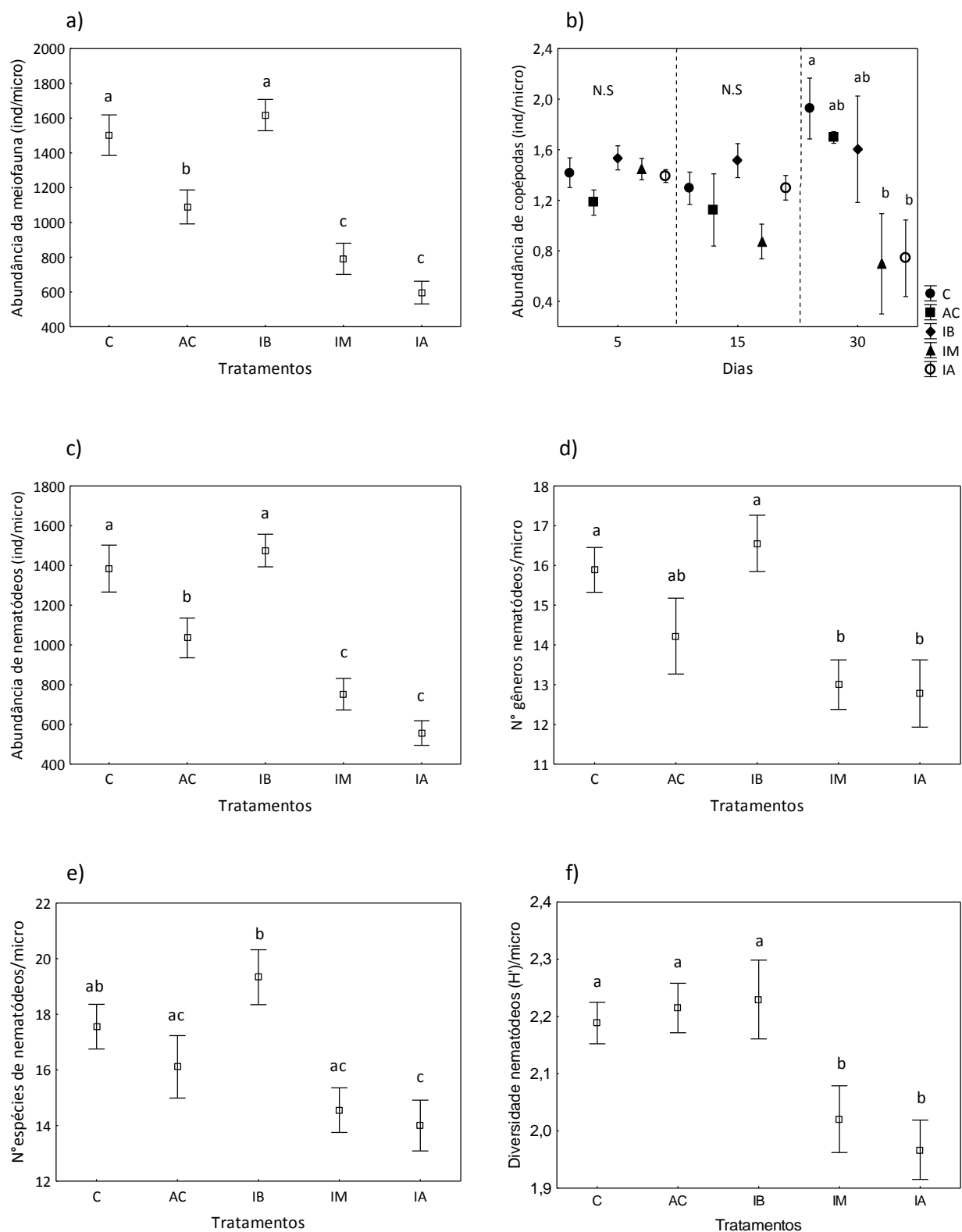


Fig. 5. Média e erro padrão para os índices: abundância da meiofauna (a), abundância de copépodos, transformada por $\log(x+1)$ (b). De (c) a (f): abundância, n° de gêneros, n° de espécies e diversidade de nematódeos, respectivamente, nos diferentes tratamentos experimentais. C: Controle puro, AC: Controle acetona, IB: Irgarol baixo, IM: Irgarol médio e IA: Irgarol alto. Diferentes letras representam diferenças significativas encontradas no teste de pós-hoc (SNK) e N.S: diferenças não significativas.

Tabela 5. Resultados da ANOVA bifatorial para os índices univariados da fauna dos diferentes tratamentos experimentais. Os valores em negrito indicam $p < 0,05$.

Efeito do Irgarol	df	SS	MS	F	p-value
<i>Abundância da meiofauna</i>					
Tratamento	4	6990255	1747564	24,78	0,001
Tempo	2	714077	357039	5,06	0,012
Trat x temp	8	303704	37963	0,53	0,818
Resíduo	30	2115574	70519		
<i>Abundância de nematódeos</i>					
Tratamento	4	5619759	1404940	23,27	0,001
Tempo	2	827072	413536	6,85	0,003
Trat x temp	8	297301	37163	0,61	0,757
Resíduo	30	1810563	60352		
<i>Abundância de copépodos</i>					
Tratamento	4	2,10	0,52	3,91	0,011
Tempo	2	0,23	0,11	0,86	0,431
Trat x temp	8	2,71	0,33	2,51	0,031
Resíduo	30	4,03	0,13		
<i>Nº grupos meiofaunais</i>					
Tratamento	4	6,53	1,63	1,98	0,122
Tempo	2	4,04	2,02	2,45	0,102
Trat x temp	8	3,73	0,46	0,56	0,796
Resíduo	30	24,60	0,82		
<i>Nº gêneros nematódeos</i>					
Tratamento	4	103,02	25,75	5,91	0,001
Tempo	2	2,17	1,08	0,25	0,780
Trat x temp	8	71,37	8,92	2,04	0,074
Resíduo	30	130,66	4,35		
<i>Nº espécies nematódeos</i>					
Tratamento	4	172,31	43,08	5,82	0,001
Tempo	2	3,51	1,76	0,23	0,790
Trat x temp	8	87,82	10,98	1,48	0,204
Resíduo	30	222,00	7,40		
<i>Diversidade nematódeos (H')</i>					
Tratamento	4	0,53	0,13	5,88	0,001
Tempo	2	0,03	0,01	0,87	0,428
Trat x temp	8	0,29	0,03	1,63	0,158
Resíduo	30	0,67	0,02		

3.3. EFEITO DO IRGAROL 1051 NA ESTRUTURA FUNCIONAL DAS ASSEMBLEIAS DE NEMATÓDEOS

No presente estudo, todos os grupos alimentares (1A: detritívoros seletivos; 1B: detritívoros não seletivos, 2A: comedores de epistrato e 2B: predadores/omnívoros) foram representados no sedimento nos diferentes tratamentos e responderam de forma distinta à contaminação pelo Irgarol. Enquanto a abundância relativa do grupo 1A não diferiu significativamente entre os diferentes tratamentos, os grupos 1B e 2A mostraram diferenças significativas na interação “tratamento” e “tempo” (Tabela 6). Após 30 dias, a abundância de nematódeos do grupo 1B foi maior nos tratamentos Irgarol médio e alto quando comparada ao controle acetona (Fig. 6). Já a abundância de nematódeos do grupo 2A foi maior no tratamento com a dose alta em relação ao controle puro após 5 dias de exposição ao Irgarol, porém não mostrou mais diferenças significativas entre os tratamentos no restante do experimento (Fig. 6).

Em contraste, o grupo 2B respondeu de forma diferente aos tratamentos, independente do tempo de exposição (Tabela 6). A abundância relativa deste grupo foi inferior nos microcosmos contaminados com as concentrações média e alta em comparação com o controle acetona, evidenciando um efeito negativo do Irgarol nessas concentrações sobre este grupo particular de nematódeos predadores (Fig. 6). Já o índice de maturidade (IM) não mostrou diferenças significativas entre os diferentes tratamentos (Tabela 6, Fig. 6).

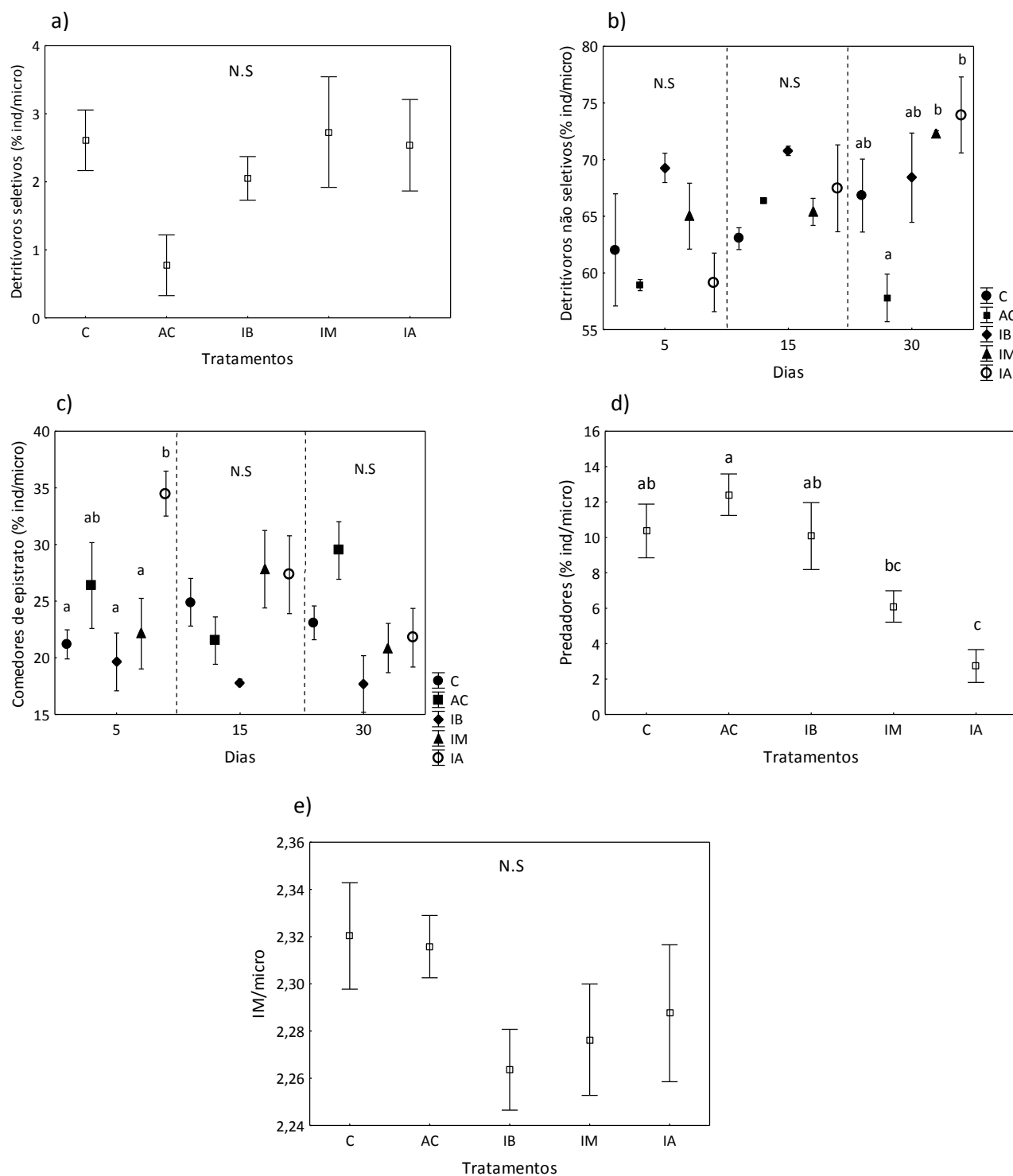


Fig. 6. Média e erro padrão para a abundância relativa dos grupos alimentares: detritívoros seletivos- 1A (a), detritívoros não seletivos-1B (b), comedores de epítrato-2A (c), predadores-2B (d) e para o índice de maturidade- IM (e) nos diferentes tratamentos experimentais. C: Controle puro, AC: Controle acetona, IB: Irgarol baixo, IM: Irgarol médio e IA: Irgarol alto. Diferentes letras representam diferenças significativas encontradas no teste de pós-hoc (SNK) e N.S: diferenças não significativas.

Tabela 6. Resultados da ANOVA bifatorial para a abundância relativa dos grupos alimentares de nematódeos e índice de maturidade (IM) dos diferentes tratamentos experimentais. Os valores em negrito indicam $p < 0,05$.

Efeito do Irgarol	df	SS	MS	F	p-value
<i>Detritívoros seletivos-1A</i>					
Tratamento	4	23,42	5,85	2,53	0,060
Tempo	2	17,76	8,88	3,84	0,032
Trat x temp	8	28,93	3,62	1,56	0,177
Resíduo	30	69,36	2,31		
<i>Detritívoros não seletivos-1B</i>					
Tratamento	4	396,00	99,00	4,93	0,003
Tempo	2	200,27	100,13	4,98	0,013
Trat x temp	8	405,62	50,70	2,52	0,031
Resíduo	30	602,46	20,08		
<i>Comedores de epistrato-2A</i>					
Tratamento	4	453,44	113,36	5,97	0,001
Tempo	2	36,34	18,17	0,95	0,395
Trat x temp	8	414,28	51,78	2,73	0,021
Resíduo	30	569,29	18,98		
<i>Predadores-2B</i>					
Tratamento	4	541,06	135,27	7,64	0,001
Tempo	2	21,70	10,85	0,61	0,548
Trat x temp	8	89,11	11,14	0,63	0,746
Resíduo	30	530,49	17,68		
<i>IM</i>					
Tratamento	4	0,02	0,00	1,62	0,195
Tempo	2	0,03	0,01	5,33	0,010
Trat x temp	8	0,03	0,00	1,24	0,313
Resíduo	30	0,10	0,00		

3.4. EFEITO DO IRGAROL 1051 NA ESTRUTURA MULTIVARIADA DAS ASSEMBLEIAS DE NEMATÓDEOS

Os resultados da PERMANOVA bifatorial mostraram diferenças significativas na estrutura multivariada das assembleias de nematódeos entre os tratamentos, independente do tempo de exposição ao Irgarol (Tabela 7). O nMDS dos dados das espécies de nematódeos mostrou o agrupamento das amostras do controle puro e Irgarol baixo, e das amostras dos tratamentos Irgarol médio e alto (Fig. 7). O controle acetona assumiu uma posição intermediária entre estes dois grupos. Estes padrões foram corroborados pelas comparações a posteriori (Tabela 7). A estrutura multivariada das assembleias de nematódeos diferiu significativamente entre o controle puro e o

restante dos tratamentos, exceto do tratamento baixo de Irgarol, e entre o tratamento Irgarol baixo e os tratamentos médio e alto. Já o controle acetona diferiu de todos os tratamentos.

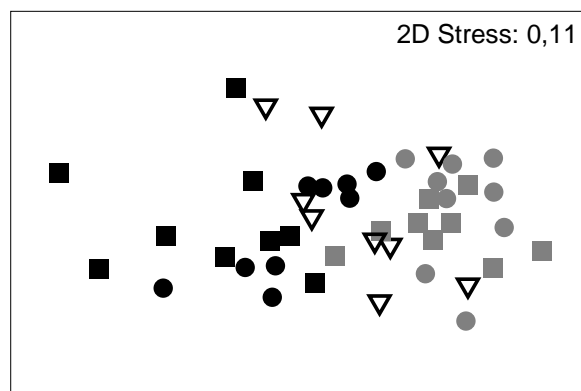


Fig. 7. Ordenação nMDS dos dados de abundância de espécies de nematódeos dos diferentes tratamentos. Quadrados pretos: tratamento alto de Irgarol, círculos pretos: tratamento médio, círculos cinza: tratamento baixo, quadrados cinza: controle puro e triângulos brancos: controle acetona.

Tabela 7. Resultados da PERMANOVA e do post-hoc Monte Carlo para a estrutura multivariada das assembleias de nematódeos dos diferentes tratamentos experimentais. C: controle puro, AC: controle acetona, IB: Irgarol baixo, IM: Irgarol médio e IA: Irgarol alto. Os valores em negrito indicam $p < 0,05$.

Fonte de variação	df	MS	Pseudo-F	P (perm)
Tratamento	4	3726,3	7,427	0,001
Tempo	2	979,51	1,952	0,024
Trat x Tempo	8	506	1,009	0,469
Resíduo	30	501,7		
	t	P (MC)		
C x AC	1,92	0,016		
C x IB	1,24	0,190		
C x IM	2,91	0,003		
C x IA	3,53	0,001		
AC x IB	2,38	0,002		
AC x IM	1,94	0,013		
AC x IA	2,61	0,002		
IB x IM	3,33	0,001		
IB x IA	3,95	0,001		
IM x IA	1,56	0,079		

Os resultados da análise SIMPER revelaram que, em geral, as espécies de nematódeos que mais contribuíram para as dissimilaridades médias entre os grupos foram: *Sabatieria* sp.1, *Odontophora* sp.1, *Comesoma* sp.1, *Bolbolaimus* sp.1 e *Oncholaimellus* sp.1. Essas espécies também foram as mais abundantes em todos os tratamentos. Apesar de persistirem em todos os microcosmos, mesmo nas concentrações mais altas de Irgarol, todas estas espécies tiveram suas abundâncias reduzidas conforme o aumento das concentrações de Irgarol (Fig. 8). Nenhuma espécie teve sua abundância aumentada nos microcosmos contaminados.

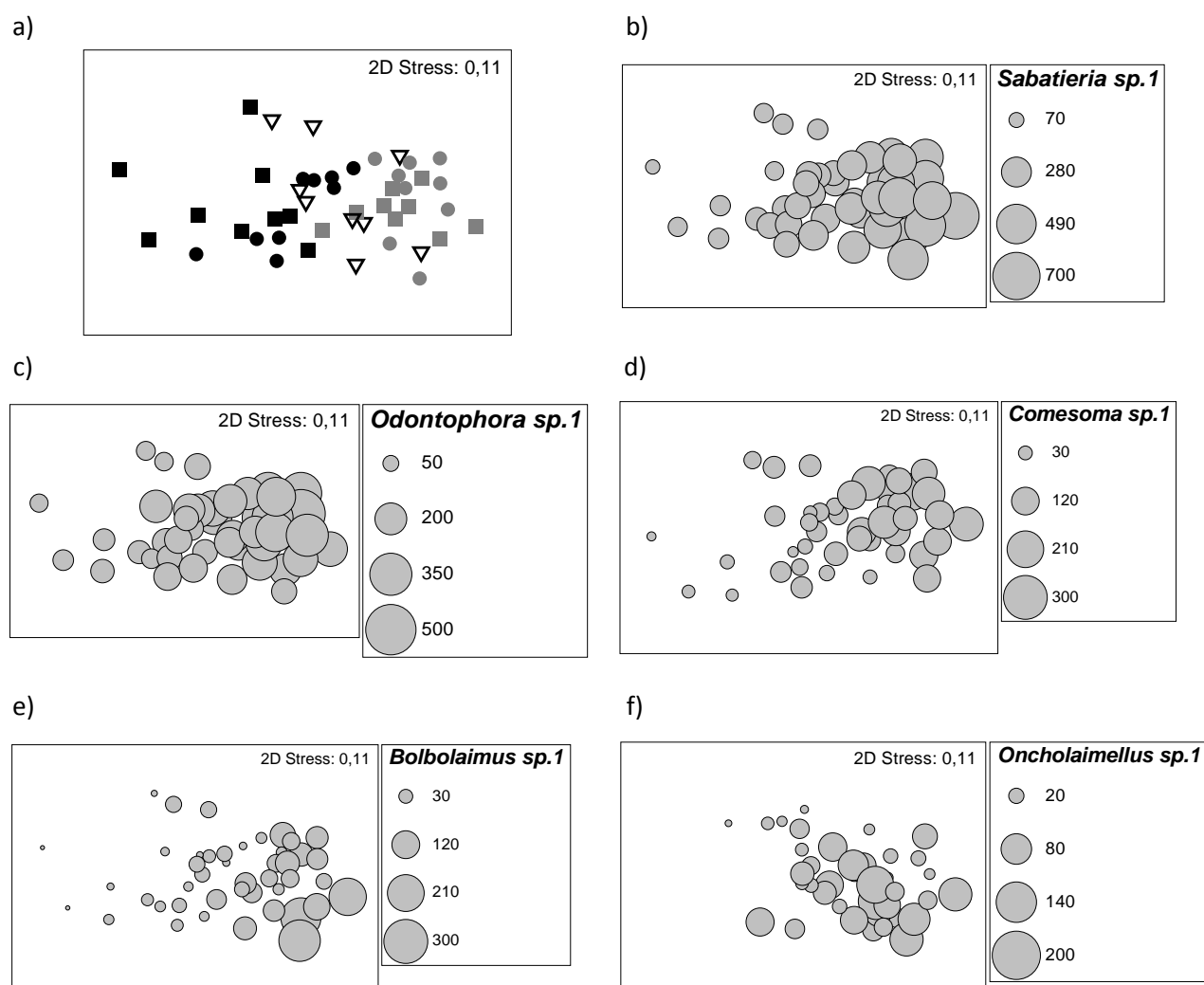


Fig. 8. Superimposição das abundâncias das espécies *Sabatieria* sp.1 (b), *Odontophora* sp.1 (c), *Comesoma* sp.1 (d), *Bolbolaimus* sp.1 (e) e *Oncholaimellus* sp.1 (f) sobre o nMDS dos dados de abundância das espécies de nematódeos (a). Quadrados pretos: tratamento alto de Irgarol, círculos pretos: tratamento médio, círculos cinza: tratamento baixo, quadrados cinza: controle puro e triângulos brancos: controle acetona.

3.5. EFEITO DO Irgarol 1051 NO POTENCIAL REDOX DO SEDIMENTO E NA BIOMASSA DO MICROFITOBENTOS

A Figura 9 mostra os valores do potencial redox no sedimento para os diferentes tratamentos nos três intervalos de tempo. O resultado da ANOVA bifatorial mostrou uma interação significativa entre os fatores “tratamento” e “tempo” (Tabela 8). Após 15 dias de experimento, o potencial redox foi significativamente maior no controle acetona em relação aos demais tratamentos. Não houve diferenças significativas entre os tratamentos nos tempos 5 e 30 dias (Fig. 9).

Para ambos os pigmentos microfitobênticos, clorofila-*a* e feopigmentos, assim como para sua razão Chl-*a*/Feo, não houve interação significativa entre os fatores “tratamento” e “tempo” (Tabela 8). No entanto, houve diferenças significativas nas concentrações de clorofila-*a* e na razão Chl-*a*/Feo entre os tratamentos (Tabela 8). A concentração de clorofila-*a*, assim como a razão Chl-*a*/Feo foram maiores no tratamento alto de Irgarol quando comparadas ao controle puro, independente do tempo de exposição ao Irgarol (Fig. 9).

3.6. RELAÇÕES ENTRE A FAUNA E FATORES AMBIENTAIS

Através do cálculo do coeficiente de correlação de *Spearman* não foi detectada nenhuma correlação significativa entre os dados de potencial redox, clorofila-*a*, feopigmentos e os dados univariados da fauna. Houve apenas uma pequena correlação positiva entre o grupo alimentar 2A e a razão Chl-*a*/Feo ($r=0,3$; $p<0,05$). Do mesmo modo, de acordo com os resultados da análise BioEnv, nenhum desses fatores explicou a estrutura multivariada da fauna ($p>0,05$).

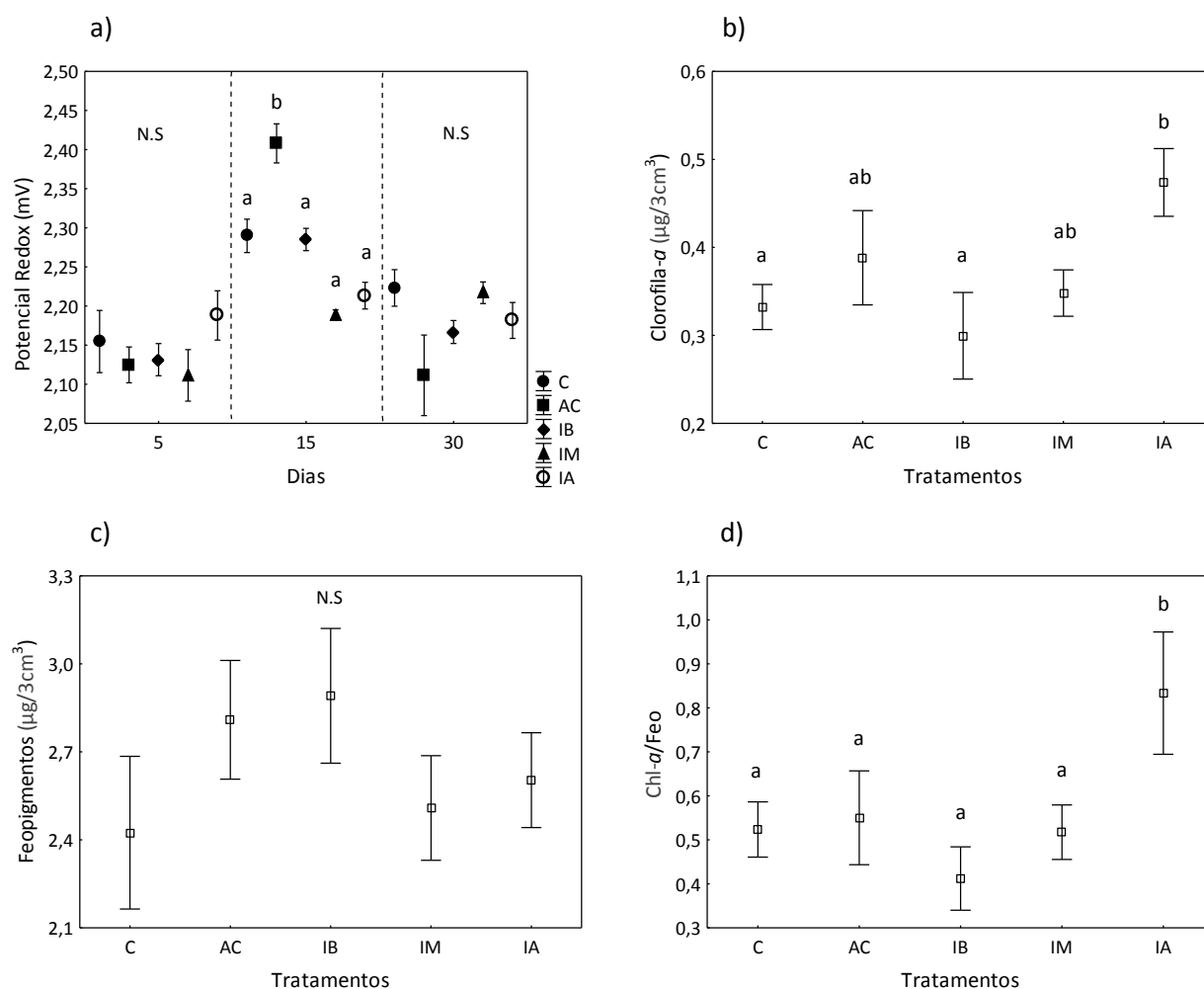


Fig. 9. Média e erro padrão para os dados de potencial redox do sedimento (mV), transformados por $\log(x+1)$ (a), clorofila-a ($\mu\text{g}/3\text{cm}^3$), transformados por $\log(x+1)$ (b), feopigmentos ($\mu\text{g}/3\text{cm}^3$) (c) e a razão Chl-a/Feo (d) nos diferentes tratamentos experimentais. C: Controle puro, AC: Controle acetona, IB: Irgarol baixo, IM: Irgarol médio e IA: Irgarol alto. Diferentes letras representam diferenças significativas encontradas no teste de pós-hoc (SNK) e N.S: diferenças não significativas.

Tabela 8. Resultados da ANOVA bifatorial para os fatores ambientais. Os valores em negrito indicam $p < 0,05$.

Efeito do Irgarol	df	SS	MS	F	p-value
<i>Potencial Redox</i>					
Tratamento	4	0,01	0,00	1,7	0,178
Tempo	2	0,14	0,07	35,0	0,001
Trat x temp	8	0,10	0,01	6,6	0,001
Resíduo	30	0,06	0,00		
<i>Clorofila-a</i>					
Tratamento	4	0,16	0,04	3,43	0,019
Tempo	2	0,13	0,06	5,40	0,009
Trat x temp	8	0,10	0,01	1,11	0,383
Resíduo	30	0,35	0,01		
<i>Feopigmentos</i>					
Tratamento	4	1,40	0,35	0,90	0,472
Tempo	2	0,53	0,26	0,69	0,507
Trat x temp	8	3,61	0,45	1,16	0,352
Resíduo	30	11,64	0,38		
<i>Chl-a/Feo</i>					
Tratamento	4	0,89	0,22	3,89	0,011
Tempo	2	0,49	0,24	4,31	0,022
Trat x temp	8	0,91	0,11	1,99	0,082
Resíduo	30	1,72	0,05		

4. DISCUSSÃO

EFICIÊNCIA DOS MICROCOSMOS

Durante o presente estudo, a abundância de nematódeos diminuiu nos microcosmos quando comparadas ao tempo 0, evidenciando um efeito do microcosmos na fauna. Esta diferença foi relacionada principalmente a diminuição na abundância das espécies dominantes, sem haver mudanças na composição e/ou perda de espécies. Isto pode estar relacionado a alguma danificação causada pelo processo de homogeneização da fauna e/ou adaptação dos organismos às condições do microcosmo, uma vez que os microcosmos são unidades experimentais estagnadas, sem troca de água ou recarga de sedimentos (Sundback et al., 1990). Além disso, o simples processo de remoção

do sedimento das condições naturais do ambiente imediatamente alteram suas características físicas, químicas e biológicas (Northcott & Jones, 2000).

No decorrer do experimento, tanto as abundâncias como a estrutura multivariada da fauna nos controles se estabilizaram e não sofreram mais quaisquer modificações, indicando que apesar desta mudança inicial na fauna, houve um bom funcionamento dos microcosmos. As concentrações dos pigmentos fotossintéticos também permaneceram estáveis nos controles ao longo do experimento, sugerindo que o microfitobentos não foi afetado pela ausência de luz. O leve aumento no potencial redox do sedimento após 15 dias de experimento pode ter ocorrido em função de uma maior aeração, em razão de algum problema com a bomba, ou até mesmo devido a uma menor atividade microbiana.

A abundância da meiofauna e de nematódeos também diminuíram no controle acetona, quando comparada ao controle puro, evidenciando um efeito tóxico da acetona na fauna, mesmo na quantidade mínima utilizada no experimento. A toxicidade da acetona nos organismos marinhos não é muito conhecida. Sabe-se que esse solvente tem o potencial de alterar as concentrações de carbono orgânico no sedimento ou água intersticial (Nkedi-Kizza et al., 1985). Além disso, quantidades excessivas do solvente podem extrair os componentes lábeis e/ou alterar as distribuições naturais de matéria orgânica nos sedimentos, prejudicando o funcionamento e estrutura das comunidades (Fuller et al., 1997). Embora a acetona apresente alta volatilidade, ela pode persistir no sedimento por algum tempo e influenciar o comportamento do Irgarol. Porém, o efeito sinérgico do solvente sobre o Irgarol não é conhecido. Durante o experimento, a acetona pode ter modificado a biodisponibilidade e toxicidade do Irgarol no tratamento com a concentração baixa, visto que não houve efeito tóxico do Irgarol na concentração de 30 µg/Kg, nem efeito da acetona nesse tratamento. No entanto, a persistência e a quantificação dos resíduos do solvente no sedimento só podem ser acessadas através de experimentos apropriados (Northcott & Jones, 2000). Visto que a acetona apresentou efeito negativo na fauna, os resultados foram comparados ao controle acetona.

EFEITOS DO IRGAROL

Os resultados dos dados univariados mostraram que os nematódeos e copépodos tiveram uma resposta diferente à contaminação pelo Irgarol. A abundância de nematódeos caiu após 5 dias de exposição ao Irgarol nas concentrações média e alta, mostrando que o efeito tóxico do Irgarol na fauna é agudo e rápido. Além disso, as abundâncias e a estrutura multivariada da fauna permaneceram constantes até o final do experimento mostrando que os organismos que não foram afetados provavelmente mantiveram suas populações. Em contrapartida, os copépodos foram afetados nas mesmas concentrações apenas 30 dias após o início do experimento. É possível que os copépodos tenham sido inicialmente mais resistentes à contaminação do Irgarol e tiveram uma resposta tardia, provavelmente devido a algum mecanismo de defesa.

A cinética de armazenamento e eliminação de um composto tóxico é afetada pelo metabolismo do organismo. A cutícula dos nematódeos é conhecida por ser metabolicamente ativa durante todo o seu ciclo de vida, ao contrário da carapaça de crustáceos (Fujimoto, 1967; Samoiloff, 1973). Essa diferença possivelmente contribuiu para uma absorção mais rápida do Irgarol pela cutícula dos nematódeos em comparação aos copépodos, o que levou a um efeito tóxico agudo e relativamente rápido do Irgarol sobre os nematódeos. Além disso, a cutícula quitinosa e espessa dos copépodos pode ter servido como uma proteção inicial contra a absorção do Irgarol dissolvido na água intersticial do sedimento (Dahllöf et al., 2001). Outra possibilidade, é que o efeito do Irgarol nos copépodos tenha sido subletal, isto é, tenha afetado algum processo metabólico (ex: reprodução, ovoposição, desenvolvimento), de modo que algum efeito seja observado apenas nas próximas gerações. Por exemplo, os copépodos podem ter investido mais energia no metabolismo (manutenção, desintoxicação e/ou osmorregulação) do que no desenvolvimento das fases iniciais do seu ciclo de vida, na fecundidade e sobrevivência (Lardies et al., 2008; Kwok et al., 2009), resultando na diminuição de suas abundâncias somente no final do experimento.

Além dos efeitos do Irgarol sobre a abundância dos nematódeos e copépodos, o número de gêneros, número de espécies e diversidade de nematódeos também diminuíram e mudanças na

estrutura multivariada das assembleias aumentaram com o aumento das concentrações de Irgarol. Estas mudanças deram-se principalmente pela redução na abundância das espécies *Sabatieria* sp.1, *Odontophora* sp.1 e *Comesoma* sp.1 nos tratamentos médio e alto de Irgarol. As informações sobre as características ecológicas dos gêneros *Odontophora* e *Comesoma* são escassas na literatura, porém o gênero *Sabatieria* é reconhecido por ser oportunista e tolerante a uma diversidade de fatores de estresse como enriquecimento orgânico, contaminação por metais, entre outros (Somerfield et al., 1994; Rzeznik-Orignac et al., 2003; Schratzberger & Rogers, 2006; Steyaert et al., 2007; Armenteros et al., 2009), o que contradiz os resultados do presente estudo.

As espécies *Bolbolaimus* sp.1 e *Oncholaimellus* sp.1, as representantes mais abundantes do grupo alimentar 2B (predadores) também diminuíram suas abundâncias com o aumento das concentrações de Irgarol. Isso é consistente com a Teoria do Índice de Maturidade de Bongers (1990), na qual os predadores são considerados mais sensíveis a ambientes poluídos e a outros fatores de distúrbio, por apresentarem baixo potencial de reprodução, um nicho ecológico limitado, tempo de geração mais longo, entre outros. Este efeito diferenciado sobre os predadores pode ter implicações ecológicas no ambiente natural, pois a perda de grandes nematódeos predadores pode interferir na estrutura das assembleias de nematódeos e ter um impacto em termos de transferência de energia na cadeia alimentar bêntica, uma vez que os grandes nematódeos podem ser mais propensos de serem predados pela macrofauna (Hamerlynk & Vanreusel, 1993).

Além da redução na abundância do grupo dos predadores, era de se esperar que o grupo dos comedores de epistrato, que se alimentam do microfitobentos, também fosse afetado pelo Irgarol, visto que ele é considerado um potente herbicida. No entanto, nem este grupo de nematódeos, nem a biomassa do microfitobentos foram afetados pelo Irgarol. Pelo contrário, houve um aumento na concentração de clorofila-*a* e na razão Chl-*a*/Feo no tratamento alto de Irgarol, o que pode estar relacionado com a pequena correlação positiva entre o grupo alimentar 2A e a razão Chl-*a*/Feo, visto que esse grupo se alimenta do microfitobentos. Dessa maneira, os resultados deste estudo sugerem que o Irgarol parece não ser tão tóxico para organismos autotróficos como se esperava ou o método

analítico utilizado não foi adequado. Além disso, não houve uma diminuição de oxigênio no sedimento, sugerindo um efeito tóxico direto do Irgarol sobre a comunidade meiofaunal.

Como o Irgarol tem sido cada vez mais utilizado em tintas anti-incrustantes como um substituto do TBT, alguns estudos têm comparado seus efeitos sobre espécies nativas da costa brasileira. No estudo de Perina (2009), a toxicidade aguda do TBT e do Irgarol foi avaliada separadamente em matriz aquosa sobre as espécies: o copépoda *Acartia tonsa*, o misídeo *Mysidopsis juniae* e o tanaidáceo *Kalliapseudes schubartii*, através da determinação da CL50, que é a concentração letal para 50% dos indivíduos de cada população. Os resultados dos ensaios mostraram o mesmo padrão de toxicidade para essas três espécies, sendo o TBT significativamente mais tóxico que o Irgarol, com concentrações letais bem mais baixas que o Irgarol. Também foi avaliada a toxicidade aguda no sedimento sobre o anfípodo escavador *Tiburonella viscana*, e o mesmo padrão de toxicidade foi encontrado.

Apesar de esses estudos mostrarem resultados importantes em relação à sensibilidade de certas espécies e o risco ambiental desses compostos, a extensão dos efeitos não é vista em nível de comunidade. Em um estudo de microcosmos sobre os efeitos do TBT sobre comunidades meiofaunais (Schratzberger et al., 2002), as assembleias de nematódeos foram expostas a duas concentrações (uma baixa e uma alta). Neste estudo o TBT não afetou a diversidade e a riqueza de nematódeos em um período de 4 semanas, ao contrário do presente estudo, em que o Irgarol afetou tanto a diversidade, quanto a riqueza e abundância de nematódeos em apenas 5 dias de exposição. Dessa maneira, embora testes de toxicidade tenham detectado maior toxicidade do TBT em relação ao Irgarol sobre algumas espécies alvo, ficou evidente neste estudo que o Irgarol em concentrações equivalentes àsquelas encontradas em marinas, especialmente próximas a rampas onde é feita a pintura e raspagem de cascos de embarcações tem um efeito adverso sobre a estrutura das comunidades meiofaunais e este efeito de curto prazo parece ser tão ou mais severo que àqueles reportados para o TBT.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Levando-se em consideração a persistência relativamente alta do Irgarol nos sedimentos, um risco para todo o ecossistema pode ser ainda maior, principalmente se a repetida entrada de Irgarol por lixiviação no ambiente é permitida. Dois aspectos de extrema importância é avaliar os efeitos ecológicos do Irgarol em nível de comunidade, além dos testes de toxicidade com organismos alvo e avaliar a toxicidade do Irgarol em conjunto com outros herbicidas, bem como na presença de metais como o cobre utilizado nas formulações de tintas anti-incrustantes, para que se estabeleçam limites seguros nas legislações ambientais.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Anderson, M.J., 2001. A new method for non-parametric multivariate analysis of variance. *Australian Journal of ecology*. 26, 32-46.
- Armenteros, M., Ruiz-Abierno, A., Fernández-Garcés, R., Pérez-García, J.A., Díaz-Asencio, L., Vincx, M., Decraemer, W., 2009. Biodiversity patterns of free-living marine nematodes in a tropical bay: Cienfuegos, Caribbean Sea. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*. 85, 179-189.
- Austen, M.C., Warwick, R.M., 1989. Comparison of univariate and multivariate aspects of estuarine meiobenthic community structure. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*. 29, 23-42.
- Austen, M.C., McEvoy, A.J., 1997. Experimental effects of Tributyltin (TBT) contaminated sediment on a range of meiobenthic communities. *Environmental Pollution*. 96 (3), 435-444.
- Biselli, S., Bester, K., Hühnerfuss, H., Fent, K., 2000. Concentrations of the antifouling compound Irgarol 1051 and of organotins in water and sediments of German North and Baltic Sea marinas. *Marine Pollution Bulletin*. 40 (3), 233-243.
- Bongers, T., 1990. The maturity index: an ecological measure of environmental disturbance based on nematode species composition. *Oecologia*. 83, 14-19.

- Bongers, T., Alkemade, R., Yeates, G.W., 1991. Interpretation of disturbance-induced maturity decrease in marine nematode assemblages by means of the Maturity Index. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 76, 135-142.
- Bongers, T., Ferris, H., 1999. Nematode community structure as a bioindicator in environmental monitoring. *TREE*. 14 (6), 224-228.
- Boxall, A.B.A., Comber, S.D., Conrad, A.U., Howcroft, J., Zaman, N., 2000. Inputs, monitoring and fate modelling of antifouling biocides in UK estuaries. *Marine Pollution Bulletin*. 40 (11), 898-905.
- Budavari, S., O' Neil, M.J., Smith, A., Heckelman, P.E., Kinneary, J., 1996. *Merck Index*, twelfth ed. Whitehouse Station, N.J, USA: Merck & CO. Inc, p. 782.
- Chung, N., Alexander, M., 1998. Differences in sequestration and bioavailability of organic compounds aged in dissimilar soils. *Environ. Sci. Technol.* 32, 855-860.
- Clarke, K.R., Ainsworth, M., 1993. A method of linking multivariate community structure to environmental variables. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 92, 205-219.
- Comber, S.D.W., Franklin, G., Gardner, M.J., Watts, C.D., Boxall, A.B.A., Howcroft, J., 2002. Partitioning of marine antifoulants in the marine environment. *Sci. Total Environ.* 286, 61-71.
- Dahlöf, I., Agrenius, S., Blanck, H., Hall, P., Magnusson, k., Molander, S., 2001. The effect of TBT on the structure of a marine sediment community-a boxcosm study. *Marine Pollution Bulletin*. 42 (8), 689-695.
- Devilla, R.A., Brown, M.T., Donkin, M., Tarran, G.A., Aiken, J., Readman, J.W., 2005. Impact of antifouling booster biocides on single microalgal species and on a natural marine phytoplankton community. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 286, 1-12.
- Evans, S.M., Birchenough, A.C., Brancato, M.S., 2000. The TBT ban: out of the frying pan into the fire? *Marine Pollution Bulletin*. 40 (3), 204-211.
- Fent, K., 2006. Worldwide occurrence of organotins from antifouling paints and effects in the aquatic environment. *Hdb. Env. Chem.* 5, Part O, 71-100.

- Finnegan, M.C., Pittman, S., DeLorenzo, M.E., 2009. Lethal and Sublethal Toxicity of the Antifoulant Compound Irgarol 1051 to the Mud Snail *Ilyanassa obsoleta*. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 56, 85-95.
- Fujimoto, D., 1967. Biosynthesis of collagen hydroxyproline in *Ascaris*. Biochim. biophys. Acta. 140, 148-154.
- Fuller, M.E., Scow, K.M., Lau, S., Ferris, H., 1997. Trichloroethylene (TCE) e toluene effects on the structure e function of the soil community. Soil. Biol. Biochem. 29 (1), 75-89.
- Giere, O., 2009. Meiobenthology: The Microscopic Motile Fauna of Aquatic Sediments, second ed. Springer-Verlag, Berlin.
- Guo, Y., Somerfield, P.J., Warwick, R.M., Zhang, Z., 2001. Large-scale patterns in the community structure and biodiversity of freeliving nematodes in the Bohai Sea, China. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom. 81, 755-763.
- Gyedu-Ababio, T.K., Baird, D., 2006. Response of meiofauna and nematode communities to increased levels of contaminants in a laboratory microcosm experiment. Ecotoxicology and Environmental Safety. 63, 443-450.
- Hall Jr, L.W., Giddings, J.M., Solomon, K.R., Balcomb, R., 1999. An ecological risk assessment for the use of Irgarol 1051 as an algaecide for antifoulant paints. Crit. Rev. Toxicol. 29, 367-437.
- Hamerlynck, O., Vanreusel, A., 1993. *Mesacanthion diplochma* (Nematoda: Thoracostomopsidae), a link to higher trophic levels. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom. 73, 453-456.
- Heip, C., Vincx, M., Vranken, G., 1985. The ecology of marine nematodes. Oceanography and Marine Biology: an Annual Review. 23, 399-489.
- IMO., 2001. International Convention on the Control of Harmful Anti-fouling Systems on Ships. International Maritime Organisation (IMO). <<http://www.imo.org/About/Conventions/ListOfConventions/Pages/Default.aspx>> (visualizada em 30.06. 2011).

- Inglesfield, C., 1984. Toxicity of the pyrethroid insecticides Cypermethrin and WL85871 to the earthworm, *Eisenia foetida savigny*. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 33, 568-570.
- Kennedy, A.D., Jacoby, C.A., 1999. Biological indicators of marine environmental health: meiofauna- a neglected benthic component? Environmental Monitoring and Assessment. 54, 47-68.
- Konstantinou, I.K., Albanis, T.A., 2004. Worldwide occurrence and effects of antifouling paint booster biocides in the aquatic environment: a review. Environment International. 30, 235-248.
- Koutsaftis, A., Aoyama, I., 2007. Toxicity of four antifouling biocides and their mixtures on the brine shrimp *Artemia salina*. Science of the Total Environment. 387, 166-174.
- Kwok, K.W.H., Grist, E.P.M., Leung, K.M.Y., 2009. Acclimation effects and fitness cost of copper resistance in the marine copepod *Tigriopus japonicus*. Ecotoxicology and Environmental Safety. 72, 358-364.
- Lam, K., Wai, H., Leung, K.M.Y., Tsang, V.W.H., Tang, C., Cheung, R.Y.H., Lam, M.H.W., 2006. A study of the partitioning behavior of Irgarol-1051 and its transformation products. Chemosphere. 64, 1177-1184.
- Lambropoulou, D.A., Sakkas, V.A., Albanis, T.A., 2004. Partitioning of antifoulings agents, Irgarol 1051 and Sea nine 211, to humic organic matter investigated by solid-phase microextraction. International Journal of Environmental Analytical Chemistry. 84, 47-54.
- Lamoree, M.H., Swart, C.P., van der Horst, A., van Hattum, B., 2002. Determination of Diuron and the antifouling paint biocide Irgarol 1051 in Dutch marinas and coastal waters. Journal of Chromatography A. 970, 183-190.
- Lardies, M.A., Medina, M.H., Correa, J.A., 2008. Intraspecific biogeographic pattern breakage in the snapping shrimp *Betaeus emarginatus* caused by coastal copper mine tailings. Mar. Ecol. Prog. Ser. 358, 203-210.
- Larsen, B., Pelusio, F., Skejo, H., Paya-Perez, A., 1992. Bioavailability of polychlorinated biphenyl congeners in the soil to earthworm (*L. rubellus*) system. Int. J. Environ. Anal. Chem. 46, 149-162.

- Lorenzen, C.J., 1967. Determination of chlorophyll and phaeo-pigments: spectrophotometric equations. *Limnol. Oceanogr.* 12 (2), 343-346.
- Mai, H., Cachot, J., Brune, J., Geffard, O., Belles, A., Budzinski, H., Morin, B., 2012. Embryotoxic and genotoxic effects of heavy metals and pesticides on early life stages of Pacific oyster (*Crassostrea gigas*). *Marine Pollution Bulletin.* 64, 2663-2670.
- Manzo, S., Buono, S., Cremisini, C., 2006. Toxic Effects of Irgarol and Diuron on Sea Urchin *Paracentrotus lividus* Early Development, Fertilization, and Offspring Quality. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 51, 61-68.
- Millward, R.N., Carmen, K.R., Fleeger, J.W., Gambrell, R.P., Portier, R., 2004. Mixtures of metals and hydrocarbons elicit complex responses by a benthic invertebrate community. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology.* 310, 115-130.
- Nkedi-Kizza, P., Rao, P.S.C., Hornsby, A.G., 1985. Influence of organic cosolvents on sorption of hydrophobic organic chemicals by soils. *Environ. Sci. Technol.* 19, 975-979.
- Northcott, G.L., Jones, K.C., 2000. Spiking hydrophobic organic compounds into soil and sediment: a review and critique of adopted procedures. *Environmental Toxicology and Chemistry.* 19 (10), 2418-2430.
- Nozais, C., Perissinotto, R., Tita, G., 2005. Seasonal dynamics of meiofauna in a South African temporarily open/closed estuary (Mdloti Estuary, Indian Ocean). *Estuarine, Coastal and Shelf Science.* 62, 325-338.
- Owen, R., Knap, A., Toaspern, M., Carbery, K., 2002. Inhibition of coral photosynthesis by the antifouling herbicide Irgarol 1051. *Marine Pollution Bulletin.* 44, 623-632.
- Parsons, T.R., Maita, Y., Lalli, C.M., 1984. A manual of chemical and biological methods for seawater analysis. Pergamon Press, New York, p. 173.
- Perina, F., 2009. Avaliação da toxicidade de biocidas utilizados em tintas anti-incrustantes. Dissertação de mestrado. Programa de Pós-graduação em Oceanografia Física, Química e Geológica, Universidade Federal do Rio Grande.

- Perina, F.C., Abessa, D.M.S., Pinho, G.L.L., Fillmann, G., 2011. Comparative toxicity of antifouling compounds on the development of sea urchin. *Ecotoxicology*. 20 (8), 1870-80.
- Platt, H.M., Warwick, R.M., 1980. The significance of free-living nematodes to the littoral ecosystem. In: Prince, J.H., Irvine, D.E.G., Farnham, W.F. (eds.). *The Shore Environment. Ecosystems*. Academic Press, London, 2, pp. 729-759.
- Power, E.A., Chapman, P.M., 1992. Assessing sediment quality. In: Burton, Jr.A.G. (eds.). *Sediment toxicity assessment*. Lewis Publisher, Boca Raton, pp. 1-18.
- Readman, J.W., van Hattum, B., Barcelo, D., Albanis, T.A., Riemann, B., Blanck, H., Gustavson, K., Tronczynski, J., Jacobson, A., 2002. Assessment of Antifouling Agents in Coastal Environments (ACE) – Final scientific and Technical Report (MAS3-CT98-0178). Plymouth Marine Laboratory, Plymouth, UK.
- Rzeznik-Orignac, J., Fichet, D., Boucher, G., 2003. Spatio-temporal structure of the nematode assemblages of the Brouage mudflat (Marennes Oléron, France). *Estuarine, Coastal and Shelf Science*. 58, 77-88.
- Samoiloff, M. R., 1973. Nematode morphogenesis: Pattern of transfer of protein to the cuticle of adult *Panagrellus silusiae* (Cephalobidae). *Nematologica*. 19, 15-18.
- Santos, F.B., Castro, R.M.C., 2003. Activity, habitat utilization, feeding behaviour, and diet of the sand moray *Gymnothorax ocellatus* (Anguilliformes, Muraenidae) in the South Western Atlantic. *Biota Neotropica*, 3 (1).
- Schratzberger, M., Wall, C.M., Reynolds, W.J., Reed, J., Waldock, M.J., 2002. Effects of paint-derived tributyltin on structure of estuarine nematode assemblages in experimental microcosms. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 272, 217-235.
- Schratzberger, M., Warr, K., Rogers, S.I., 2006. Patterns of nematode populations in the southwestern North Sea and their link to other components of the benthic fauna. *Journal of Sea Research*. 55, 113-127.

- Somerfield, P.J., Gee, J.M., Warwick, R.M., 1994. Soft sediment meiofaunal community structure in relation to a long-term heavy metal gradient in the Fal estuary system. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 105, 79-88.
- Steyaert, M., Moodley, L., Nadong, T., Moens, T., Soetaert, K., Vincx, M., 2007. Responses of intertidal nematodes to short-term anoxic events. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology.* 345, 175-184.
- Suderman, K., Thistle, D., 2003. Spills of fuel oil #6 and Orimulsion can have indistinguishable effects on the benthic meiofauna. *Marine Pollution Bulletin.* 46, 49-55.
- Sundbäck, K., Jönsson, B., Per Nilsson., Lindstrom, I., 1990. Impact of accumulating drifting macroalgae on a shallow-water sediment system: an experimental study. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 58, 261-274.
- Turra, A., Gonçalves, M.A.O., Denadai, M.R., 2013. Spatial distribution of the ghost crab *Ocypode quadrata* in low-energy tide-dominated sandy beaches. *Journal of Natural History.* 39 (23), 2163-2177.
- Underwood, A. J., 1997. *Experiments in Ecology: Their Logical Design and Interpretation Using Analysis of Variance.* Cambridge University Press, Cambridge.
- WHO., 1998. International Programme on Chemical Safety (IPCS): Environmental Criteria 202. World Health Organization (WHO). Selected Non-heterocyclic PAHs, Geneva.
- Wieser, W., 1953. Die Beziehung zwischen Mundhöhlengestalt, Ernährungsweise und Vorkommen bei freilebenden marinen Nematoden. *Arkiv för Zoologi.* 4, 439-484.
- Yebra, D.M., Kiil, S., Dam-Johansen, K., 2004. Antifouling technology- past, present and future steps towards efficient and environmentally friendly antifouling coatings. *Progress in Organic Coatings.* 50, 75-104.
- Zhang, A.Q., Leung, K.M.Y., Kwok, K.W.H., Bao, V.W.W., Lam, M.H.W., 2008. Toxicities of antifouling biocide Irgarol 1051 and its major degraded product to marine primary producers. *Marine Pollution Bulletin.* 57, 575-586.

7. APÊNDICES

Apêndice 1. Abundância média dos taxa de meiofauna (ind/microcosmos) em cada tratamento e em cada tempo (0, 5, 15 e 30 dias).

	Controle puro				Controle acetona			Irgarol baixo			Irgarol médio			Irgarol alto		
	0	5	15	30	5	15	30	5	15	30	5	15	30	5	15	30
Nematoda	3589	1529	1340	1283	1384	909	813	1700	1271	1455	943	635	678	602	490	578
Tanaidacea	46	19	22	34	23	10	24	18	23	35	12	9	13	4	28	15
Copepoda	37	27	20	111	15	20	49	35	35	74	28	7	11	24	20	8
Náuplio	24	20	16	76	3	3	12	36	78	84	19	1	11	2	11	5
Polychaeta	1	0	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0
Ostracoda	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Acaro	0	1	2	1	1	0	0	1	2	4	0	0	5	1	0	1
Cumacea	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Tardigrada	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1

Apêndice 2. Abundância (média de três réplicas) de morfoespécies de nematódeos em cada tratamento e em cada tempo (0, 5, 15 e 30 dias).

	Controle puro				Controle acetona			Irgarol baixo			Irgarol médio			Irgarol alto		
	0	5	15	30	5	15	30	5	15	30	5	15	30	5	15	30
<i>Actinonema</i> sp.1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	2,5
<i>Ascolaimus</i> sp.1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,8	0,0	0,0	0,0
<i>Bolbolaimus</i> sp.1	217,8	120,3	75,9	38,1	137,6	50,8	40,3	54,4	60,1	117,8	23,6	19,0	15,9	9,5	8,1	9,8
<i>Chromadorella</i> sp.1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	2,6	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Chromadorina</i> sp.1	0,0	0,0	3,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Chromadorita</i> sp.1	0,0	0,0	0,0	0,0	3,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	2,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Cobbia</i> sp.1	29,3	0,0	3,3	3,0	3,3	0,0	0,0	0,0	3,1	0,0	0,0	1,5	0,0	0,0	2,3	1,0
<i>Comesa</i> sp.1	6,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Comesoma</i> sp.1	293,8	158,7	107,3	126,6	93,0	63,7	65,1	127,9	103,6	115,5	51,9	45,9	73,8	21,5	26,4	42,2
<i>Cyartonema</i> sp.1	3,8	0,0	0,0	0,0	3,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Daptonema</i> sp.1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,9
<i>Daptonema</i> sp.3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	3,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Daptonema</i> sp.4	61,3	16,4	2,7	3,0	9,7	6,8	0,0	22,2	16,0	3,2	8,6	1,8	0,0	3,9	7,9	6,3
<i>Daptonema</i> sp.5	52,3	3,5	0,0	9,9	3,6	2,9	0,0	16,0	12,7	18,7	11,3	6,9	1,8	0,0	1,3	5,8
<i>Dasynemella</i> sp.2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	2,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Dichromadora</i> sp.1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	3,3	3,1	6,5	2,8	4,1	0,0	5,9	0,0	0,0
<i>Enoplus</i> sp.1	0,0	0,0	0,0	0,0	3,6	0,0	5,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Gomphonema</i> sp.1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	2,7	0,0	3,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,3	0,0
<i>Halalaimus</i> sp.1	4,3	9,4	2,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	2,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Halalaimus</i> sp.3	8,6	34,6	28,0	28,5	3,3	10,2	0,0	41,7	21,7	15,7	39,9	3,3	7,7	18,2	10,7	15,5
<i>Hypodontolaimus</i> sp.1	0,0	0,0	3,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Hypodontolaimus</i> sp.2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	3,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Lauratonema</i> sp.h	0,0	0,0	2,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Leptolaimus</i> sp.1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	3,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

Apêndice 2. Continuação

<i>Metachromadora</i> sp.1	0,0	0,0	3,3	0,0	3,2	2,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Metachromadora</i> sp.4	0,0	0,0	0,0	0,0	3,6	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	8,8	0,0	0,0	1,5	0,0	0,0
<i>Metalinhomoeus</i> sp.1	0,0	2,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	2,5
<i>Meylia</i> sp.1	0,0	2,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Microlaimus</i> sp.1	0,0	0,0	9,3	0,0	0,0	0,0	0,0	3,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Microlaimus</i> sp.4	0,0	0,0	0,0	0,0	3,3	0,0	0,0	0,0	3,1	3,2	0,0	0,0	8,5	0,0	0,9	12,5
<i>Microlaimus</i> sp.f	0,0	0,0	3,3	0,0	0,0	0,0	0,0	6,4	3,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Nudora</i> sp.1	291,9	124,6	148,9	128,2	154,7	86,4	119,0	117,5	94,8	65,4	121,9	96,5	65,9	143,0	89,3	75,0
<i>Odontophora</i> sp.1	569,6	199,5	249,7	254,4	213,5	154,3	105,5	370,8	259,1	256,3	237,3	131,3	158,3	109,0	101,8	149,2
<i>Odontophora</i> sp.2	21,5	30,5	34,6	15,3	17,5	5,8	0,0	48,2	6,4	12,6	8,5	0,0	6,0	9,3	0,0	0,0
<i>Omicronema</i> sp.1	23,1	6,4	3,3	3,3	6,5	9,3	5,0	6,3	3,3	19,3	0,0	2,3	3,0	2,0	7,3	1,0
<i>Oncholaimellus</i> sp.1	241,3	64,9	51,4	52,2	37,4	39,2	49,2	79,8	47,7	37,0	43,1	18,3	7,9	4,5	6,0	0,0
<i>Oxystomina</i> sp.2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	3,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Paracanthonchus</i> sp.1	250,4	90,7	59,7	83,2	93,3	56,5	85,2	108,6	41,5	63,6	32,6	51,0	50,3	46,7	17,9	23,0
<i>Paracanthonchus</i> sp.3	0,0	0,0	0,0	6,6	6,9	6,8	0,0	3,3	6,2	31,9	2,9	4,1	5,1	0,0	14,5	8,4
<i>Paracomesoma</i> sp.1	0,0	3,1	0,0	6,3	0,0	0,0	0,0	0,0	6,0	3,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,9	1,0
<i>Paralinhomoeus</i> sp.1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	3,3	0,0	0,0	2,9	0,0	3,0	0,0	0,0	0,0
<i>Paralongicyatholaimus</i> sp.1	37,0	12,9	58,3	6,6	6,5	2,9	0,0	22,4	16,0	34,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Paramonohystera</i> sp.1	33,7	12,9	21,4	16,2	3,3	23,9	7,6	3,3	9,4	51,5	0,0	2,3	0,0	0,0	0,0	18,2
<i>Pomponema</i> sp.1	0,0	0,0	2,7	3,3	0,0	0,0	0,0	6,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Pontonema</i> sp.1	3,8	2,9	0,0	0,0	0,0	0,0	2,7	3,2	3,1	9,5	2,9	0,0	1,8	3,0	0,0	1,9
<i>Prochromadorella</i> sp.1	0,0	0,0	0,0	3,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Pseudonchus</i> sp.1	0,0	2,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Pseudosteineria</i> sp.1	523,2	76,1	25,1	9,6	86,9	39,7	93,6	183,6	99,1	82,4	81,3	13,9	39,1	51,0	37,8	21,5
<i>Pseudosteineria</i> sp.2	43,9	0,0	6,6	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Pseudosteineria</i> sp.m	179,7	0,0	0,0	3,3	6,4	8,8	36,6	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Ptycholaimellus</i> sp.1	4,3	3,5	0,0	0,0	3,3	2,9	0,0	3,2	3,1	0,0	0,0	4,8	0,0	0,0	3,2	1,9
<i>Sabatieria</i> sp.1	601,8	456,1	389,2	414,7	376,2	288,4	154,6	395,2	388,9	435,2	210,4	209,0	202,5	161,9	134,5	167,0

Apêndice 2. continuação

<i>Scaptrella</i> sp.1	3,8	0,0	3,3	0,0	3,6	3,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Sphaerolaimus</i> sp.3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	2,3	0,0
<i>Spilophorella</i> sp.1	0,0	0,0	0,0	0,0	3,2	0,0	0,0	0,0	3,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Spirinia</i> sp.1	0,0	9,4	0,0	0,0	3,6	6,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Spirinia</i> sp.2	51,9	64,5	25,3	48,0	70,8	21,3	25,4	47,7	31,1	49,6	32,2	15,7	12,9	9,5	8,3	2,5
<i>Spirinia</i> sp.3	3,8	7,0	9,3	3,3	3,3	3,4	10,2	9,7	6,1	3,2	2,8	3,6	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Steineria</i> sp.1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	3,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,9
<i>Stylotheristus</i> sp.1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	3,6	0,0
<i>Synonchiella</i> sp.1	18,2	6,3	0,0	3,3	6,4	2,9	0,0	3,2	3,1	3,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Terschellingia</i> sp.1	0,0	0,0	0,0	0,0	3,2	0,0	2,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,8	0,0	0,0	0,0
<i>Terschellingia</i> sp.3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	3,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Terschellingia</i> sp.l	0,0	0,0	0,0	3,3	0,0	0,0	0,0	3,2	0,0	3,2	3,1	0,0	3,0	0,0	0,0	0,0
<i>Theristus</i> sp.a	4,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	3,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Trefusia</i> sp.1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	3,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Trochamus</i> sp.1	0,0	2,9	6,0	9,6	3,3	2,4	0,0	3,1	3,1	0,0	3,1	0,0	4,9	1,5	2,6	5,4
<i>Viscosia</i> sp.1	4,3	3,5	0,0	0,0	3,6	3,4	0,0	0,0	0,0	6,4	0,0	0,0	2,9	0,0	0,0	0,0

Apêndice 3. Dados brutos dos fatores ambientais: Potencial Redox do sedimento, clorofila-*a*, feopigmentos e a razão Chl-*a*/Feo em cada tratamento e em cada tempo (5, 15 e 30 dias).

Tratamentos	Réplicas	Tempo (dias)	Potencial Redox (mV)	Clorofila- <i>a</i> ($\mu\text{g}/3\text{ cm}^3$)	Feopigmentos ($\mu\text{g}/3\text{ cm}^3$)	Chl- <i>a</i> /Feo
Controle puro	A	5	170	1,41	3,37	0,42
Controle puro	C	5	133	0,65	1,02	0,64
Controle puro	D	5	126	1,08	3,31	0,33
Controle acetona	B	5	124	5,09	3,70	1,37
Controle acetona	C	5	127	1,73	3,57	0,48
Controle acetona	D	5	147	0,97	3,27	0,30
Irgarol baixo	B	5	125	0,65	3,67	0,18
Irgarol baixo	C	5	132	1,30	2,94	0,44
Irgarol baixo	D	5	147	1,19	3,05	0,39
Irgarol médio	A	5	116	1,73	2,13	0,81
Irgarol médio	B	5	122	1,41	1,85	0,76
Irgarol médio	D	5	149	0,97	2,97	0,33
Irgarol alto	A	5	136	3,46	2,22	1,56
Irgarol alto	B	5	151	2,92	2,00	1,46
Irgarol alto	D	5	175	2,16	2,61	0,83
Controle puro	B	15	207	1,52	2,20	0,69
Controle puro	C	15	200	1,62	2,24	0,72
Controle puro	D	15	176	0,87	3,15	0,27
Controle acetona	A	15	270	1,73	3,04	0,57
Controle acetona	B	15	227	0,97	2,59	0,38
Controle acetona	C	15	270	1,08	2,10	0,52
Irgarol baixo	A	15	195	1,41	2,38	0,59
Irgarol baixo	B	15	201	1,95	3,13	0,62
Irgarol baixo	C	15	180	1,30	2,11	0,62
Irgarol médio	A	15	152	2,06	3,63	0,57
Irgarol médio	B	15	158	1,08	2,10	0,52
Irgarol médio	D	15	150	1,41	2,31	0,61
Irgarol alto	A	15	153	1,84	2,25	0,82
Irgarol alto	B	15	175	1,84	3,62	0,51
Irgarol alto	C	15	160	2,27	2,95	0,77
Controle puro	A	30	184	0,76	2,50	0,30
Controle puro	C	30	163	1,08	1,65	0,66
Controle puro	D	30	153	1,62	2,39	0,68
Controle acetona	A	30	101	1,30	2,57	0,51
Controle acetona	B	30	143	0,87	2,16	0,40
Controle acetona	D	30	146	0,97	2,28	0,43
Irgarol baixo	B	30	156	0,97	2,44	0,40
Irgarol baixo	C	30	142	1,08	2,18	0,50
Irgarol baixo	D	30	140	-0,11	4,12	-0,03
Irgarol médio	A	30	162	0,76	2,42	0,31
Irgarol médio	B	30	156	1,08	2,71	0,40
Irgarol médio	D	30	174	0,87	2,47	0,35
Irgarol alto	B	30	136	1,84	2,78	0,66
Irgarol alto	C	30	156	1,52	2,65	0,57
Irgarol alto	D	30	162	0,76	2,35	0,32